



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2023

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

SAADI Leila & BOUDALI ERREBAI Nour El Houda

Thème

Etude de la contamination fongique des graines de *Nigella sativa* et *Linum usitatissimum*

Soutenu le: 02 /07/2023

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Mme Boubeka N.</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Mme Ait Mimoune N.</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Mme Bouhenni H.</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciements

Tout d'abord, je remercie mon Dieu de m'avoir donné la force et la patience pour réaliser ce travail.

Les travaux de ce projet de fin d'études ont été réalisés au laboratoire de Microbiologie Appliquée du département de Biologie de l'Université de Bouira.

J'exprime mes profonds remerciements à ma promotrice, Mme AIT MIMOUNE, pour son accompagnement et son expertise. Sa disponibilité et ses conseils judicieux ont été d'une grande aide tout au long de mon travail.

J'adresse mes sincères remerciements à Mme BOUBEKA d'avoir accepté de présider le jury de ma soutenance.

Je tiens également à remercier Mme BOUHENNI qui m'a fait l'honneur d'accepter de juger ce travail.

DÉDICACE

JE DÉDIE CE MÉMOIRE

A MES PARENTS, AUX QUELS JE DOIS TOUT,

EN PARTICULIER, MON PÈRE POUR SES IMMENSES SACRIFICES

TOUT AU LONG DE SA VIE

A TOUTE MA FAMILLE

A MES AMIS

A TOUS CEUX QUI ME SONT CHERS

QUE DIEU VOUS PROTÈGE, VOUS PROCURE LA SANTÉ,

LA RÉUSSITE ET UNE BELLE VIE.

LEILA

DÉDICACE

JE DÉDIE CET ÉVÉNEMENT MARQUANT DE MA VIE À MES PARENTS FORMIDABLES.

MERCI DE M'AVOIR PERMIS DE RÉALISER CES LONGUES ÉTUDES ET CELLES À
VENIR.

MERCI POUR L'ÉDUCATION ET LES VALEURS QUE VOUS M'AVEZ TRANSMISES.

MERCI POUR TOUT L'AMOUR QUE VOUS ME PORTEZ ET TOUTE LA CONFIANCE QUE
VOUS M'ACCORDEZ.

À MES CHERS FRÈRES : MOHAMED, ABD EL KADAR, ISSAM, SAAD, QUI ONT
TOUJOURS ÉTÉ PRÉSENTENT DANS LES MOMENTS LES PLUS DIFFICILES. QUE DIEU
LES PROTÈGES ET LEURS OFFRE LA CHANCE ET BONHEUR.

À TOUS MES COUSINS ET MES AMIS QUE J'AI CONNU JUSQU'À MAINTENANT.

SANS OUBLIER MON BINÔME LEILA.

MERCI POUR LEURS AMOURS ET LEUR ENCOURAGEMENT.

HOUDA

SOMMAIRE

Liste des abréviations.....	
Liste des figures.....	
Liste des tableaux	
Introduction	

Revue bibliographique

Chapitre 01 : Les moisissures

1. Définition	02
2. Structure des moisissures	02
3. Critères d'identification des moisissures	03
3.1. Identification morphologique	03
3.1.1. Critères d'identification macroscopique	03
3.1.2. Critères d'identification microscopique	03
3.2. Identification moléculaire	04
4. Colonisation des denrées alimentaires	04
5. Moisissures mycotoxinogènes	05
5.1. Le genre <i>Aspergillus</i>	06
5.1.1. Généralités	06
5.1.2. Classification	07
5.2. Le genre <i>Penicillium</i>	09
6. Les facteurs qui favorisent la croissance des moisissures	10

Chapitre 02 : Les mycotoxines.

1. Définition	13
2. Facteurs favorisant la mycotoxinogénèse	13
2.1. Facteurs intrinsèques	13
2.3. Facteurs extrinsèques	13

3. Principaux mycotoxines	16
3.1. Les Aflatoxines	16
3.1.1. Réglementation des aflatoxines	17
3.2. Les ochratoxines	18
3.2.1. Réglementation d'OTA	19

Chapitre 03 : Matière alimentaire

1. Synthèse bibliographique sur la plante de nigelle (<i>Nigella sativa</i>).....	21
1.1. Généralité	21
1.2. Classification de <i>Nigella sativa</i>	21
1.3. Morphologie de la plante	22
1.4. L'origine, la production et le commerce international de nigelle	23
1.5. Composition nutritionnelle de <i>Nigella sativa</i>	23
1.6. Les maladies fongiques de nigelle	25
2. Synthèse bibliographique sur la plante de lin (<i>Linum usitatissimum</i>)	26
2.1. Généralité	26
2.2. Classification de la plante	26
2.3. Morphologie de la plante	27
2.4. L'origine, la production et le commerce international de lin	29
2.5. Composition nutritionnel des graines de lin	29
2.6. Les maladies fongiques de lin	30

Partie expérimentale

Chapitre 04 : Matériels et méthodes

1. Echantillonnage	31
--------------------------	----

2. Milieux de culture	31
3. Préparation des diluants	31
4. Isolement et dénombrement de la flore fongique	32
5. Identification des isolats obtenus	33
5.1. Identification macroscopique	33
5.2. Identification microscopique	33
5.2.1. Méthode de prélèvement direct avec un ruban adhésif	33
6. Repiquage et Purification	34
7. Etude de la production des mycotoxines	35
7.1. Etude de pouvoir producteur des aflatoxines	35
8. Production des sclérotés	35

Chapitre 05 : Résultats et discussion

1. Analyse de la flore fongique des échantillons	36
1.1. Identification des genres et des espèces	36
1.2. Charge totale et taux de contamination des échantillons par les champignons	43
1.3. Distribution (%) des champignons dans les différentes matrices	45
1.4. Pourcentage de contamination (nombre d'échantillons) par les différents genres isolés	47
1.5. Contamination (nombre d'échantillons) par les espèces Aspergillaires identifiées	48
1.6. Etude du pouvoir producteurs des aflatoxines par les isolats d' <i>Aspergillus flavus</i>	50
1.7. Etude de pouvoir producteur des sclérotés	51
Conclusion et perspectives	52

Références bibliographiques.....

Annex.....

Résumé.....

Liste des abréviations

AF: Aflatoxine.

AFB: Aflatoxine B.

AFG: Aflatoxine G.

AFM: Aflatoxine M.

Aw : Activité de l'eau.

BEN : Néphropathie endémique des Balkans.

CHC : Carcinome hépatocellulaire.

CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer.

CIT : Citrine.

CSAH : Comité Scientifique de l'Alimentation Humaine.

FAO: Food and Agriculture Organization.

IARC: International Agency for Research on Cancer.

ITS1: Internal Transcribed spacers 1.

ITS2: Internal transcribed spacers 2.

JECFA: Joint Expert Committee of Food and Additives.

LA : L'acide linoléique.

NK: Natural Killer.

OTA : Ochratoxine A.

OTB : Ochratoxine B.

OTC : Ochratoxine C.

PCR : Polymerase Chain reaction (Réaction en chaîne par polymérase).

PP : vitamine niacine.

Liste des figures

Figure 01 : Structure des moisissures	03
Figure 02: Propriétés des moisissures toxigènes	05
Figure 03 : Caractères morphologiques des <i>Aspergillus</i>	07
Figure 04 : Morphologie des colonies de: (A) <i>Aspergillus flavus</i> ; (B) <i>Aspergillus fumigatus</i> ; et (C) <i>Aspergillus niger</i> sur gélose Sabouraud, et leur aspect microscopique sur lames gélosées	08
Figure 05: Aspect microscopique de <i>Penicillium spp</i>	10
Figure 06: Plage de températures minimale, optimale et maximale (°C) pour la production de mycotoxines par quelques espèces fongiques.....	14
Figure 07 : Plante et graines de <i>Nigella sativa</i>	22
Figure 08 : Le lin : (A) Fleur, (B) Fruit, (C) Plante séchée, (D) Graines	27
Figure 9: Technique d'isolement par la méthode de suspension dilution.....	32
Figure 10: Méthode de prélèvement direct avec la technique du drapeau.....	33
Figure 11 : Méthode de repiquage et purification des souches.....	34
Figure 12 : Aspect macroscopique d' <i>Aspergillus niger</i> sur milieu PDA, CYA et MEA respectivement avec l'aspect microscopique observé sous microscope photonique (G×10 et G×40).....	37
Figure 13 : Aspect macroscopique d' <i>Aspergillus carbonarius</i> sur milieu PDA, CYA et MEA, respectivement avec l'aspect microscopique observé sous microscope photonique ((G×10 et G×40).....	37
Figure 14: Aspect macroscopique d' <i>Aspergillus fumigatus</i> sur milieu PDA, CYA et MEA, respectivement avec l'aspect microscopique observé sous microscope photonique ((G×10 et G×40).....	38
Figure 15: Aspect macroscopique d' <i>Aspergillus flavus</i> sur milieu PDA et MEA, respectivement avec l'aspect microscopique observé sous microscope photonique (G×40).....	39

Figure 16 : Aspect macroscopique de <i>penicillium sp</i> sur milieu PDA et CYA, respectivement avec l'aspect microscopique observé sous microscope photonique (G×100).....	40
Figure 17 : Aspect macroscopique de <i>Rhizopus sp</i> sur milieu PDA avec l'aspect microscopique observé sous microscope photonique (G×10 et G×40).....	40
Figure 18: Aspect macroscopique d' <i>Alternaria sp</i> sur milieu PDA, CYA et MEA, respectivement avec l'aspect microscopique observé sous microscope photonique (G×40 et G×100).....	41
Figure 19: Aspect macroscopique d' <i>Alternaria sp</i> sur milieu PDA, CYA et MEA, respectivement avec l'aspect microscopique observé sous microscope photonique (G×40).....	42
Figure 20: Densité de la flore fongique totale (UFC/g) des différents échantillons analysés.....	44
Figure 21 : Taux de contamination des échantillons par les champignons.....	44
Figure 22 : Distribution (%) des champignons dans les échantillons de nigelle.....	46
Figure 23 : Distribution (%) des champignons dans les échantillons de lin.....	47
Figure 24 : Pourcentage de contamination (nombre d'échantillons) par les différents genres isolés.....	48
Figure 25 : Contamination (nombre d'échantillons) par les espèces Aspergillaires identifiées.....	49
Figure 26 : Aspect des isolats d' <i>Aspergillus flavus</i> sous U.V (365nm) : A) isolat producteur d'AFs B, B) isolat non producteur d'AFs.....	50
Figure 27 : Aspects d'un isolat d' <i>Aspergillus flavus</i> après 15 jours d'incubation sur milieu CAM, ne montrant aucune production de sclérotés.....	51

Liste des tableaux

Tableau 01 : Teneurs maximales en aflatoxines exprimées en $\mu\text{g}/\text{kg}$	17
Tableau 02 : Répartition des échantillons analysés selon l'origine et la nature.....	31

Introduction

Les moisissures sont considérées comme hétérotrophes qui nécessitent une source de carbone et d'azote pour se multiplier. Cependant, elles ne sont pas très exigeantes et peuvent être présentes partout dans la nature (**Botton et al., 1990**). Les moisissures qui se forment sur les produits alimentaires génèrent des substances toxiques connues sous le nom de mycotoxines. Ces substances sont des métabolites secondaires qui présentent un danger considérable pour la santé, ainsi qu'une perte économique (**Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz, 2002 ; Murphy et al., 2006 ; Gauthier, 2016**). D'après l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, près d'un quart des récoltes mondiales sont touchées par la contamination des moisissures et la présence de mycotoxines, ce qui entraîne des pertes estimées à plusieurs milliards de dollars (**Bhat et al., 2010**).

Les graines de *Nigella sativa* et de *Linum usitatissimum* ont été utilisées depuis l'antiquité comme des épices et des ingrédients en médecines à base de plante. Cependant, la présence des champignons dans ces graines peut avoir des conséquences sur leur qualité et leur sécurité alimentaire (**Muir et Westcott, 2003; Mahotra, 2012 ; Schilperoord, 2018 ;Wako, 2020**).

Dans le cadre de ce travail, nous avons étudié la présence et la diversité des contaminants fongiques associés aux graines de lin et de nigelle commercialisées dans la région de Bouira.

Ce travail s'articule autour de 05 chapitres :

- Le premier chapitre décrit les différentes connaissances bibliographiques sur les moisissures.
- Le deuxième chapitre décrit les différentes connaissances bibliographiques sur les mycotoxines.
- Le troisième chapitre présente une synthèse bibliographique des deux plantes *Nigella sativa* et *Linum usitatissimum*.
- Le chapitre suivant correspond au matériel et méthodes utilisés pour l'étude de la contamination fongique des graines de *Nigella sativa* et *Linum usitatissimum*.
- Le dernier chapitre se concentre sur les résultats obtenus et leur discussion.

Enfin, ce travail est achevé par une conclusion qui résume l'ensemble des résultats obtenus et les perspectives d'avenir.

Les moisissures

1. Définition :

Les moisissures sont des organismes eucaryotes appartenant au règne de *Fungi*. Il s'agit des champignons microscopiques d'aspect filamenteux qui nécessitent une source de carbone pour leur croissance. Ils sont des microorganismes ubiquitaires qui colonisent différents substrats comme les aliments, le bois, les papiers... **(Boudih, 2011)**.

La contamination des denrées alimentaires par les moisissures entraîne à des modifications physiques (aspect, goût, odeur) et des modifications chimiques (modification des qualités nutritives) de l'aliment. Les contaminations fongiques provoquent des altérations de la qualité nutritionnelle et diététique des produits, ainsi que la synthèse des métabolites secondaires toxiques (les mycotoxines). Cependant, les moisissures peuvent être utiles dans plusieurs secteurs, comme celles utilisées dans l'industrie agroalimentaire (pour améliorer la qualité organoleptique de l'aliment, ex : *Penicillium camemberti*, *Penicillium roqueforti*...) **(Tabuc, 2007)**.

2. Structure des moisissures :

La structure de base est le thalle filamenteux, qui constitue l'appareil végétatif de ces microorganismes. Ils ont une forme mycélienne, composée d'un ensemble des filaments tubulaires appelés hyphes (Figure 01). Le diamètre de l'hyphes se varie entre 1–30µm, selon l'espèce et les conditions de croissance, tandis que sa longueur est de quelques microns jusqu'à plusieurs mètres. Le mycélium se développe par l'expansion de l'extrémité apicale des hyphes qui vont ensuite se ramifier de façon aléatoire pour former des colonies ressemblant à des arbres. La fusion aléatoire d'hyphes (anastomose) permet la formation d'un réseau de fibres. La densité de ramification et la topologie du réseau sont liées aux conditions nutritionnelles et environnementales. La paroi des hyphes est composée essentiellement de la chitine, des bêta-glucanes et des protéines. La surface externe est riche en bêta-glucanes, qui joue un rôle de mucilage, alors que la couche intérieure est constituée de microfibrilles chitineuses réticulés avec d'autres polysaccharides comme les glucanes. Les microfibrilles de chitine donnent à l'hyphes sa rigidité et sa résistance **(Islam et al., 2017)**.

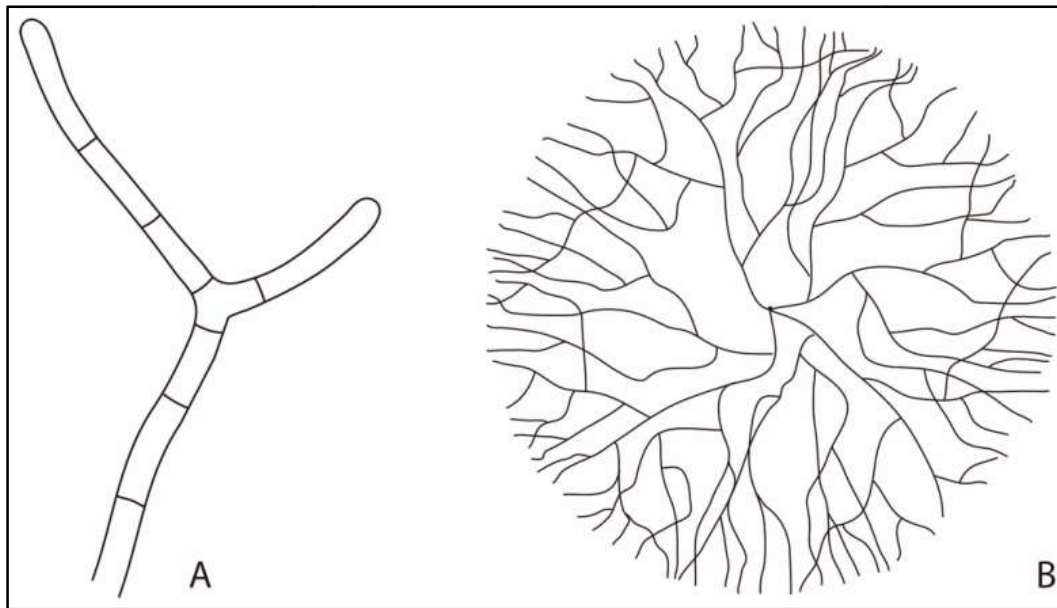


Figure 01 : Structure des moisissures : (A) Structure filamenteuse de l'hyphe montrant des cellules disposées les unes après les autres, avec une formation de ramification; (B) Morphologie bidimensionnelle typique d'un mycélium résultant du ramification des hyphes (Bindschedler et *al.*, 2016).

3. Critères d'identification des moisissures :

3.1. Identification morphologique :

Elle repose sur des critères macroscopiques et microscopiques des souches obtenues.

I.3.1.1. Critères d'identification macroscopique :

- **L'aspect des colonies** : couleur au recto et verso, la taille, la texture (cotonneuse, poudreuse, la présence ou l'absence de mycélium aérien).
- La vitesse de croissance et la température optimale de croissance qui sont également un critère d'orientation (Chabasse et *al.*, 2002).

3.1.2. Critères d'identification microscopique :

L'identification microscopique est réalisée après un prélèvement d'un fragment de la culture et observation entre lame et lamelle. Les critères à observés sont :

- **Morphologie de thalle** : Il peut être cloisonné ou siphonné, mélanisé ou hyalin, large ou fin, à bords parallèles ou froissés. L'aspect de ramifications peut se diffère entre les souches en terme de l'angle de séparation, la densité, etc.
- **Les spores** : Ils sont d'origine endogène, produites à l'intérieur d'un sac appelé sporocyste ou d'origine exogène, formées par bourgeonnement à partir d'une cellule

spécialisée (phialide) ou par fragmentation de l'hyphe. Ils possèdent une forme ronde ou allongée, d'une taille identique ou différente, avec une paroi lisse ou échinulée. Ils se déposent en amas, en chaînette, en grappe ou seul (**Blaize et al., 2021**).

3.2. Identification moléculaire :

Les méthodes traditionnelles d'identification fongique reposent sur les caractéristiques morphologiques (**Blaize et al., 2021**), mais des méthodes basées sur l'ADN ont été développées pour augmenter la fiabilité et accélérer le processus d'identification. Les méthodes les plus intéressantes reposent sur la technique de PCR (réaction de polymérisation en chaîne) qui permet d'amplifier des régions spécifiques de l'ADN, telles que la région D1-D2 du gène codant pour la sous-unité 28S ribosomale, ainsi que les régions ITS1 et ITS2.

Actuellement, l'identification moléculaire est principalement utilisée en mycologie médicale pour différencier les espèces d'intérêt, mais elle est également utilisée pour distinguer les moisissures qui sont à l'origine de la contamination alimentaire. Cependant, l'identification moléculaire n'est pas toujours concluante pour les espèces de *Fusarium* et l'analyse morphologique traditionnelle reste essentielle. Des recherches sont en cours pour développer des méthodes moléculaires de détection des souches mycotoxinogènes, qui pourraient devenir des outils utiles pour l'identification des champignons dans les aliments (**Tabuc, 2007**).

4. Colonisation des denrées alimentaires :

La contamination des denrées alimentaire par les moisissures est liée aux facteurs abiotique comme : la pluie, la température..., l'état sanitaire de la plante précédant une récolte, la méthode de récolte et les facteurs de dissémination des spores (Les animaux, surtout les insectes) (**Nguyen, 2017**).

Les moisissures puisent dans le milieu extérieur la source de carbone et d'énergie qu'elles nécessitent pour leur croissance. La cellule fongique est riche en enzymes dépolymérase. Elle les excrète dans le milieu extérieur pour décomposer les polymères complexes comme la cellulose, la lignine et les composés pectiques peuvent être "digérés" par de nombreux champignons. La capacité des moisissures à coloniser les différents types d'aliments est due à leur richesse en enzymes puissants et variés, leur tolérance au faible aw, à des pH acides, et à des concentrations faibles d'oxygène. Les hyphes ne restent pas localisés au site contaminé. Grâce à leur croissance strictement apicale et de leur ramification subapicale, ils s'allongent continuellement sur et dans le substrat vers des régions nutritives neuves, occupant toute la surface comestible (**Nadjet et al., 2016**).

5. Moisissures mycotoxinogènes :

On peut ainsi différencier principalement 2 types de moisissures (Figure 02):

✓ **Des moisissures hygrophiles ou de «champs» :**

Ils nécessitent une activité de l'eau importante pour se développer, de 0.90 à 0.95 (Roche et Gilot, 2012). Ils appartiennent principalement au deux genres *Fusarium* et *Alternaria* qui contaminent les produits agricoles avant et pendant la récolte (Bouras et al., 2009)

✓ **Des moisissures xérotolérantes ou «de stockage» :**

Ils se développent à une activité water minimale, de 0.80 à 0.90 (Roche et Gilot, 2012). Ils appartiennent principalement aux deux genres *Aspergillus* et les *Penicillium* (Bullerman et al., 1984)

✓ **Des moisissures xérophiles :**

Ils sont rares et nécessitent une activité water importante pour se développer, de 0.70 au minimum (Roche et Gilot, 2012).

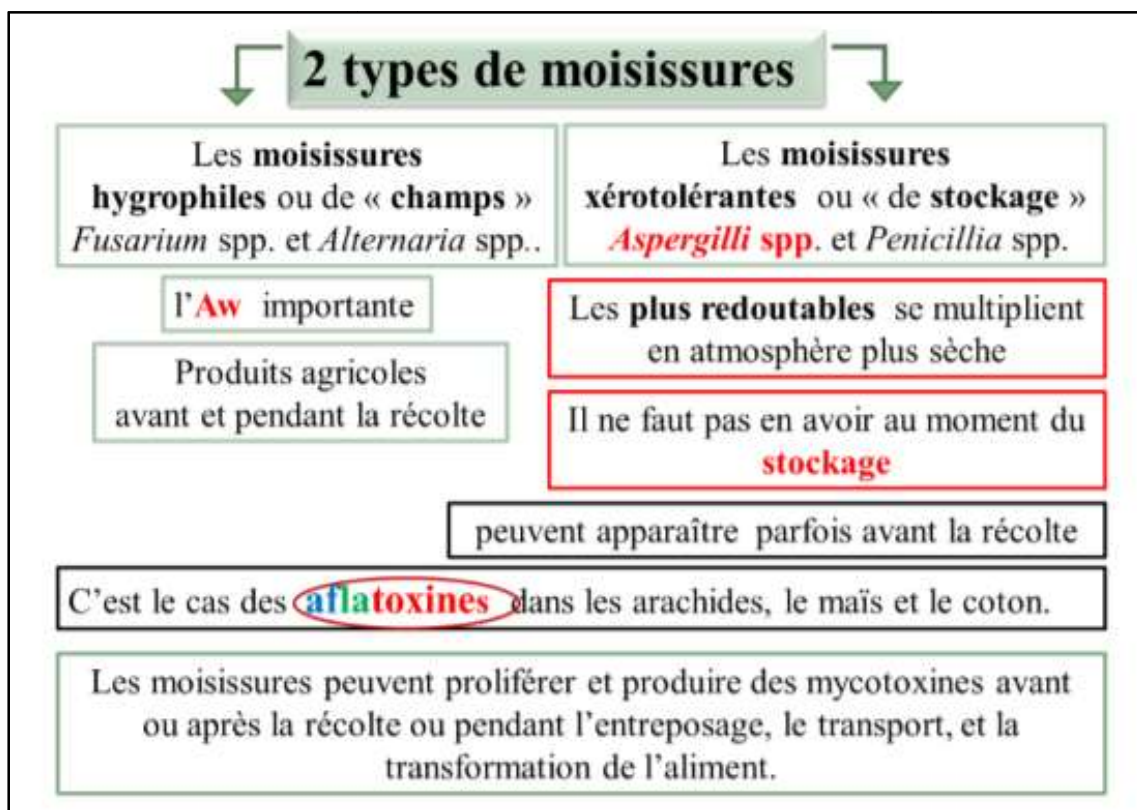


Figure 02: Propriétés des moisissures toxigènes (Nadjjet et al., 2016).

5.1. Le genre *Aspergillus* :

5.1.1. Généralités :

Ce genre a été nommé *Aspergillus* en 1972 par Micheli grâce à sa structure microscopique porteuse des spores semblable à un outil utilisé par le clergé catholique romain pour asperger l'eau bénite durant une partie de la liturgie appelée les asperges. Le genre comprend 250 espèces (**Bennett et E. Bakerand, 2007**). Ils ont une large répartition géographique en colonisant les différents substrats comme le sol, les végétaux en décomposition... avec une dominance dans les régions tropicales. Ils sont capables de se développer à des températures élevées et à un aw faible. Ils se croissent plus rapidement par rapport au *Penicillium*, mais leur durée de sporulation est plus longue (**Pitt et Hocking, 2009 ; Vijayakumar et al., 2012**). Plusieurs espèces d'*Aspergillus* présentent un risque pour la santé humaine et animale soit par la production des molécules toxiques dans les aliments qu'ils contaminent, soit ils infectent l'homme directement en provoquant des infections localisées et systémiques, en particulier chez les personnes immunodéprimées.

Les spores d'*Aspergillus* se trouvent dans l'air. Elles se propagent par les courants d'air sur de courtes et de longues distances selon les conditions environnementales. Elles se déposent sur les surfaces solides ou liquides, et germent si les conditions d'humidité sont bonnes (**Bennett et E. Bakerand, 2007**).

La structure portant des spores est la caractéristique déterminante du genre *Aspergillus*. L'élargissement de certaines cellules de l'hyphe forme un pied perpendiculaire aux cellules de l'hyphe. Parfois, le pied se développe en conidiophore qui va s'élargir au niveau de l'apex pour former une vésicule. La partie fertile de la vésicule donne naissance à des phialides (**Bennett et E. Bakerand, 2007 ; Pitt et Hocking, 2009**), des cellules productrices des conidies (spores) sous forme de chaînes via une division mitotique. La taille et la disposition des têtes conidiennes ainsi que la couleur des spores font partie des caractéristiques d'identification des espèces *Aspergillus* (Figure 03).

Les espèces de ce genre présentent une importance industrielle, ils sont capables de produire les enzymes, les acides organiques (l'acide citrique, gluconique, itaconique...) et les produits alimentaires (la sauce soja...). Les moisissures appartenant au genre *Aspergillus* jouent un rôle important dans la dégradation des amidons, les hémicelluloses, les celluloses, les pectines et autres polymères de sucre. Certaines espèces peuvent même dégrader les huiles, la chitine et la kératine. Ils fournissent donc la nourriture à de nombreux organismes du sol (**Bennett et Bakerand, 2007**).

5.1.2. Classification :

Les espèces d'aspergillus sont classés en 25 section (Houbraken et *al.*, 2020). Cette classification est basée sur :

- La présence /absence de téléomorphe et ses caractéristiques. Que signifie la présence /absence.
- La présence /absence des métules.
- L'arrangement des métules et des phialides.
- Le colure de colonie (Pitt et Hocking, 2009).

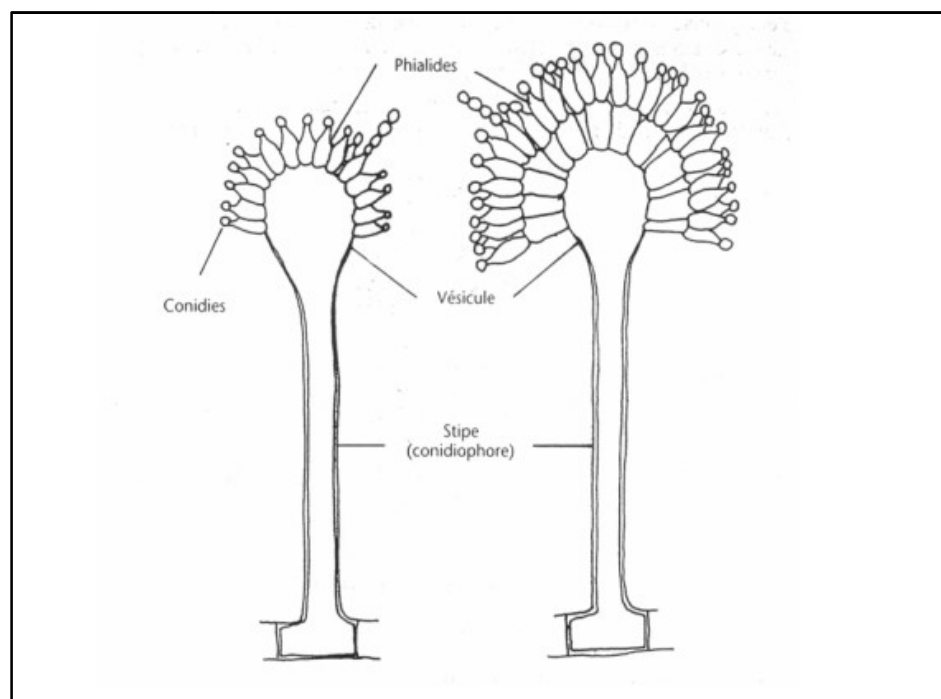


Figure 03 : Caractères morphologiques des Aspergillus (Nguyen, 2007).

- ***Aspergillus* section *Nigri* :**

Les espèces de section *Nigri* possèdent une tête conidienne radiée portant des conidies noires. Les conidiophores sont hyalins ou pigmentés sous la vésicule. Cette dernière possède une forme globuleuse ou presque globuleuse, parfois brun foncé. Les métules peuvent être présentes ou absentes et elles sont souvent pigmentées. L'espèce type de la section est : *A. niger* (Gams et *al.*, 1986).

- ***Aspergillus* section *Flavi* :**

Les espèces de section *Flavi* possèdent une tête conidienne radiée, de couleur jaune-verte à brun olive foncée. Les conidiophores sont hyalin, généralement verruqueux portant des vésicules globuleuses ou subglobuleuses, rugueuses à échinulées. Les métules peuvent être présentes ou absentes. L'espèce type de la section est : *A. flavus* (Gams et al., 1986 ; Varga et al., 2011).

Cette section comprend 11 espèces divisées en 04 groupes. Dans le premier groupe On trouve *A. flavus*, *A. oryzae*, *A. minisclerotigenes* et *A. parvisclerotigenes*. Le deuxième groupe est composé d'*A. parasiticus*, *A. sojae* et *A. archidicola*. Le troisième groupe inclus *A. tamarii*, *A. bombycis* et *A. pseudotamarii*. Le quatrième groupe comprend une seule espèce qui est *A. nomius* (Godet et Munaut, 2010).

Plusieurs espèces produisent les aflatoxines, dont *A. flavus* et *A. parasiticus* sont les producteurs les plus importants (Varga et al., 2011).

- ***Aspergillus* section *Fumigati* :**

Les espèces de la section *Fumigati* possèdent des têtes conidiennes colonnaires compactes, de couleur gris-verte à bleu-verte foncée. Les conidiophores ont une paroi lisse, souvent verdâtre. Ils portent une vésicule claviforme. Les métules sont absentes. L'espèce type de la section est : *A. fumigatus* (Gams et al., 1986).

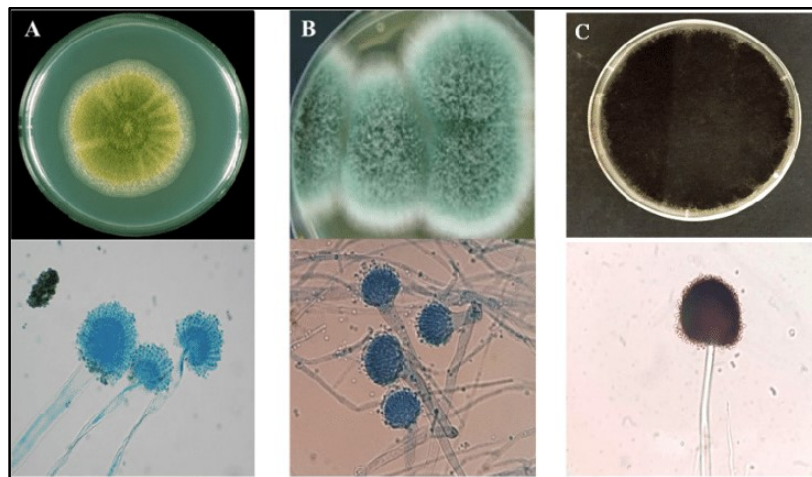


Figure 04 : Morphologie des colonies de: (A) *Aspergillus flavus*; (B) *Aspergillus fumigatus*; et (C) *Aspergillus niger* sur gélose Sabouraud, et leur aspect microscopique sur lames gélées (Rozaliyani et al., 2021)

5.2. Le genre *Penicillium* :

Le genre *penicillium* est plus varié en termes de nombre d'espèces par rapport au genre *Aspergillus* (Pitt et Hocking, 2009). Il comprend 26 sections incluant 350 espèces (Houbraken et al., 2020). Les espèces appartenant au genre *Penicillium* sont ubiquitaires, retrouvées essentiellement dans les régions tempérées (Vijayakumar et al., 2012 ; Pitt et Hocking, 2009). Ils contaminent différents types de substrats et ils sont considérés comme des décomposeurs importants de la matière organique (Vijayakumar et al., 2012). Ils font également une partie des champignons producteurs des enzymes. Ils altèrent les aliments et produisent dans certains cas des mycotoxines. Les espèces d'origines alimentaire sont principalement mésophile avec une température optimale de croissance de 25°C (Houbraken et al., 2020).

Les colonies possèdent une croissance rapide. Ils sont bleu-vert, gris-vert, jaunâtre ou rosâtre au recto et pâle à jaunâtre, rouge, ou marron au verso, souvent composés principalement de feutre dense de conidiophores. Ils possèdent une texture veloutée à poudrée (Vijayakumar et al., 2012). Les spores sont exogènes à paroi sèche facilement disséminés par l'air (Houbraken et al., 2020). Elles sont déposées de manière basipetale formant une chaîne, produite par les phialides. Les phialides apparaissent seul, en groupe ou produits à partir des métules ramifiés donnant une apparence d'un pinceau connu sous le nom de *penicellus* (Pitt et Hocking, 2009 ; Houbraken et al., 2020). Le nombre de point de ramification est considéré comme une critère d'identification de sous de *penicillium* (Figure 05) (Houbraken et al., 2020).

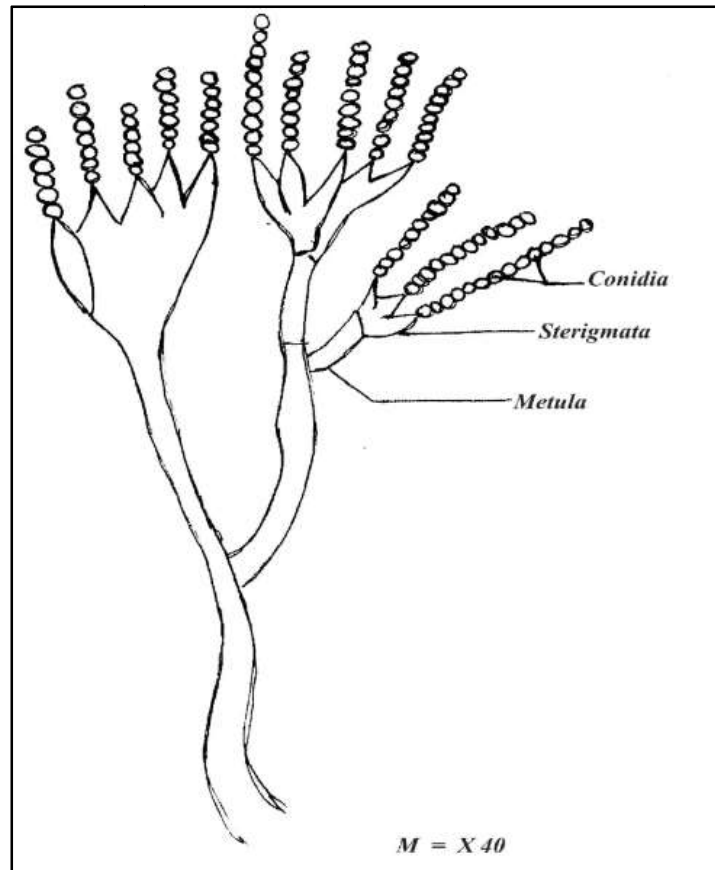


Figure 05:Aspect microscopique de *Penicillium sp* (Ogunleye et Olaiya, 2015).

6. Les facteurs qui favorisent la croissance des moisissures :

Les facteurs de croissance jouent un rôle vital dans la nutrition et le développement de certains microorganismes en étant des composés indispensables (Leclerc et al., 1995). La croissance de ces microorganismes est conditionnée par la composition des substrats disponibles (cellulose, la lignine, etc...) et les conditions physiques telles que la température, l'activité de l'eau (a_w) ou la disponibilité en eau, le pH et l'oxygène (Gibson et al., 1994). Il est indiqué que la température, l'activité de l'eau et le pH jouent un rôle prépondérant dans la germination et la croissance des moisissures xérophiles. Les conditions de développement de chaque espèce sont spécifiques en termes de conditions physico-chimiques (Reboux, 2006).

- **La température :**

Son influence est essentielle dans la croissance du mycélium. D'une manière générale, les moisissures ont la capacité de se développer dans une plage de températures allant de moins zéro à plus de 50°C (Proctor, 1995). La majorité des moisissures sont des organismes

mésophiles, avec une température optimale de croissance située entre 25 et 35°C (**Guiraud, 1998**). Certaines espèces sont thermotolérantes ou thermophiles et peuvent croître à température élevée (au-dessus de 50°C), avec une croissance optimale aux environ de 20 à 25°C. Un bon exemple en est l'*Aspergillus fumigatus* (**Nicklin et al., 2000**). D'autres sont des psychrophiles ou psychrotolérantes se développant à températures basses (entre -5 et 10°C), tels que *Helicostylum pulchrum*, *Chrysosporium pannorum* et *Cladosporium herbarum*, Ces espèces sont capables de survivre même à des températures aussi basses que -60°C, et on les trouve couramment dans des entrepôts frigorifiques (**Davet, 1996**).

- **Le PH :**

Le pH du milieu est un facteur important pour la croissance des moisissures et la production des mycotoxines. La plupart des moisissures se développent dans des environnements à pH acide et peuvent tolérer des valeurs de pH très basses (**Le Baras et al., 1987 ; Guiraud, 1998**). Cependant, la croissance maximale des moisissures sur les céréales se produit généralement dans une plage de pH allant de 6 à 8 (**Reboux, 2006**). Ce dernier le pH a une influence sur le potentiel de croissance des moisissures xérophiles (**Gock et al., 2003**).

- **Activité de l'eau :**

L'activité de l'eau est un facteur qui influe sur la croissance des champignons. Elle est définie comme le rapport de la pression de vapeur d'eau d'un produit (p) sur la pression de vapeur de l'eau pure (p₀), à une température donnée (**Cahagnier et al., 2005**). La plupart des moisissures se développent favorablement lorsque l'activité de l'eau avoisine 0,85. Les moisissures des genres *Aspergillus* et *Penicillium* ont généralement la capacité de se développer à des activités d'eau avoisinant 0,7 à 25°C. Par conséquent, elles peuvent proliférer dans des aliments pauvres en eau, tels que les céréales pendant le stockage, les fruits secs et les produits dont l'activité hydrique a été réduite (comme les produits de salaison sèche, les confitures, etc.) (**Castegnaro et Pfohl-Leskowicz, 2002**).

- **Présence d'oxygène :**

Les moisissures ont besoin d'oxygène pour se développer. Elles sont aérobies, mais certaines peuvent s'adapter à un environnement confiné contenant plus de dioxyde de carbone que l'air ambiant. Par exemple, les espèces *Paecilomyces varioti* et *Aspergillus clavatus*, qui produisent de la "Patuline", peuvent s'adapter à un milieu anaérobie. Mais dans l'ensemble, un

accroissement de la teneur en gaz carbonique du milieu diminue et supprime la croissance des moisissures (**Derache, 1986**).

- **Éléments nutritifs**

Les moisissures sont des organismes hétérotrophes, ce qui signifie qu'elles ont besoin de la présence d'éléments nutritifs essentiels tels que le carbone et l'azote dans leur environnement pour assurer leur croissance. Les moisissures possèdent une large gamme d'enzymes, qui leur permet d'utiliser plus efficacement, encore que les bactéries (**Davet, 1996**).

- **Source de carbone et d'énergie**

Les moisissures sont capables d'utiliser pratiquement tous les composés organiques comme source de carbone et d'énergie. La plupart d'entre elles peuvent métaboliser le glucose et le saccharose, ainsi que certains polysaccharides tels que l'amidon et la cellulose (**Boiron, 1996 ; Nicklin et al., 2000**). Certaines de ces moisissures produisent des lipases extracellulaires capables d'hydrolyser les lipides en glycérol et en acides gras, qui peuvent ensuite être assimilés par de nombreuses espèces de champignons. Cependant, seules certaines espèces sont capables d'utiliser les acides organiques et l'éthanol comme sources de carbone et d'énergie (**Boiron, 1996 ; Tabuc, 2007**).

- **Source d'azote :**

La plupart des espèces sont capables d'utiliser d'autres sources d'azote telles que les nitrates, les acides aminés et les protéines. L'ammoniaque est transformé en acide glutamique, en glutamine ou en d'autres acides aminés par transamination (**Boiron, 1996**), alors que seules quelques espèces sont capables d'utiliser les nitrates, tandis que d'autres ne peuvent se développer qu'en présence d'azote organique, et aucune moisissure n'est capable de fixer l'azote atmosphérique (**Devet, 1997 ; Belyagoubi, 2006**).

Les mycotoxines

1. Définition :

Le mot mycotoxine est dérivé de mot grecque « mukes » qui signifie champignon et du mot latin « toxicum » qui signifie poison (Bakirdere et al., 2012). Elles sont des métabolites secondaires produites principalement par les genres *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* et *Fusarium*. Il s'agit de petites molécules peu solubles dans l'eau, généralement non dégradables par les organismes vivants et thermostables (jusqu'à 250°C), trouvées dans les aliments après cuisson ou même après stérilisation et résistantes à des pH acides. Elles persistent dans l'aliment même si après la mort de champignons responsables de leur production. Elles se trouvent dans le mycélium, les spores et diffusent dans le substrat qu'elles contaminent (Nadjjet et al., 2016).

2. Facteurs favorisant la mycotoxinogénèse :

2.1. Facteurs intrinsèques (liés à la souche fongique elle-même) :

La toxicité des espèces fongiques varie et la production de mycotoxines peut dépendre des espèces, des souches ou de genres. On prend l'exemple d'*Aspergillus flavus* qui peut croître entre 15 et 44°C et produire l'AFB1, tandis qu'*Aspergillus carbonarius* peut croître entre 8 et 40°C et produire de l'OTA. On peut aussi observer des différences de condition optimale de croissance et de mycotoxinogénèse entre les souches d'une même espèce. De plus, il est possible que des souches d'une même espèce produisent des mycotoxines différentes ou plusieurs types de mycotoxines (Awuchi et al., 2021).

2.3. Facteurs extrinsèques (ensemble des conditions écologiques) :

- La température :

La majorité des moisissures sont mésophiles avec une température optimale de croissance de 25 à 35°C (Dendouga, 2017). Plusieurs moisissures produisent des mycotoxines de manière plus efficace à des températures comprise entre 20 et 30°C (Awuchi et al., 2021). Généralement, La température optimale de la toxinogénèse est proche de la température optimale de croissance mais, légèrement inférieure (Tabuc, 2007). La température optimale de croissance d'*Aspergillus flavus* et d'*Aspergillus parasiticus* est de 36°C, tandis que la production d'aflatoxines (AFs) par ces deux espèces nécessite une température entre 25 et 33°C (Redouane, 2016). La température nécessaire pour la production d'OTA par *P.*

verrucosum et *A. ochraceus* est plus basse que celle qui est nécessaire pour sa production par *A. niger* est *A. carbonarius*. D'autre part, *A. ochraceus* a besoin d'une température plus grande que *P. verrucosum* pour atteindre la production optimale d'OTA (Figure 06) (Amezqueta et al., 2012).

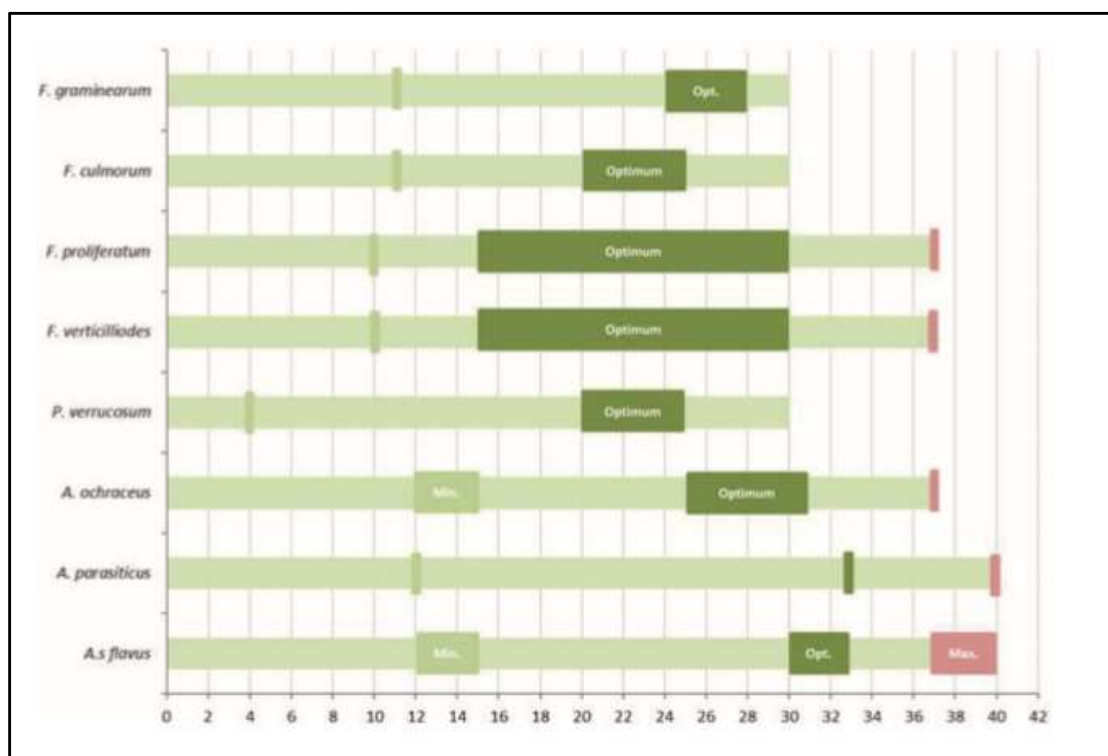


Figure 06: Plage de températures minimale, optimale et maximale (°C) pour la production de mycotoxines par quelques espèces fongiques (Awuchi et al., 2021).

- **Activité de l'eau :**

L'activité hydrique requis pour la toxinogénèse est supérieure à celui requis pour la croissance (Tabuc, 2007 ; Gauthier, 2016). *Aspergillus flavus* se développe de façon optimale à une activité de l'eau de 0.95 par contre la production d'aflatoxines (AFs) nécessite une activité de l'eau de 0,99 (Redouane, 2016), et pour *Penicillium verrucosum*, les conditions optimales de son développement nécessitent une activité de l'eau de 0,80 alors que la production d'OTA nécessite une activité $\geq 0,85$ (Tabuc, 2007).

L'activité de l'eau minimale requis pour la production d'OTA est 0.8 - 0.95 (dans les céréales, *P. verrucosum* : 0.80 ; *A. ochraceus* et *A. niger* : 0.91), elle est optimale de 0.95 - 0.99 (Amezqueta et al., 2012).

- **Le pH :**

La croissance des champignons et la production des mycotoxines sont influencées par le pH de l'environnement. Il affecte le processus métabolique y compris la morphogénèse et la sporulation. Une variation de pH peut avoir un impact sur l'expression des gènes impliqués dans la biosynthèse de certaines mycotoxines. Par exemple, à un pH de 8, les gènes responsables de la production de l'OTA par *Penicillium verrucosum* sont activés. La synthèse des AFs nécessite un pH de 4. De même, la quantité d'OTA produites par *Aspergillus ochraceus* est plus élevée dans des conditions de faibles pH. La production de la fumonisine B1 nécessite un environnement alcalin et exige un pH qui se situe entre 4 et 5 pour être synthétisée. De façon similaire, la synthèse de trichothécènes est favorisée dans les conditions acides (Awuchi et al., 2021).

- **Composition gazeuse :**

La majorité des moisissures sont des microorganismes aérobies. La diminution de la concentration d'oxygène et surtout l'augmentation de la concentration de CO₂ dans le milieu ont un effet inhibiteur important sur la toxino-génèse. Les taux d'O₂ entre 5 et 21% réduisent la production d'aflatoxines dans l'arachide, et lorsque le taux en O₂ est inférieur à 1% la production est inhibée (Nguyen, 2007).

- **Substrat :**

Un champignon ne croît pas forcément sur n'importe quel substrat. L'aflatoxine (AF) ne se trouve presque jamais dans le soja. À cause de la présence d'inhibiteurs à l'état de trace comme le zinc ou de protéine de petit poids moléculaire. La composition de substrat en certains nutriments comme les sucres a un impact sur la contamination en AF. La contamination des arachides et de soja par l'OTA produits par *A. alutaceus* est plus importante par rapport au colza, le blé ou le maïs. D'un autre côté le meilleur substrat pour la production d'OTA par *P. verrucosum* est le maïs. La CIT est synthétisée dans le blé et le maïs par *P. verrucosum* seulement. La différence des facteurs physico-chimiques (aw, protéines, oxygénation, etc.) conduit à cette spécificité de substrat (Nguyen, 2007 ; Redouane, 2016).

- **Interactions entre organismes :**

Les insectes et acariens disséminent les spores de moisissures dans les grains par les lésions qu'ils créent ou sur la surface. Souvent, Les arachides, le coton et le maïs attaqués par les

insectes avant la récolte présentent une contamination par *A. flavus* ou les aflatoxines. Les grains stockés hébergeant des charançons portent en général une population fongique importante et parfois des mycotoxines. La présence simultanée de micro-organismes réduit la production de mycotoxines grâce à la compétition entre eux. La présence de *F. moniliforme* dans les épis de maïs empêche la croissance d'*A. flavus* et réduit le taux d'AF produit. *A. niger* inhibe la production d'AF pour *A. flavus*, car ce dernier produit des molécules inhibant la biosynthèse d'AF. La présence de plusieurs espèces fongiques sur la même denrée a généralement un effet inhibiteur sur la production de toxine (Nguyen, 2007).

3. Principaux mycotoxines :

3.1. Les Aflatoxines :

Le mot Aflatoxine est une combinaison de trois mots ; « A » pour le genre *Aspergillus*, « fla » pour l'espèce *flavus* et le mot « toxine » qui signifie un poison (Bakirdere et al., 2012).

La découverte de l'aflatoxine a commencée en Angleterre au début des années 1960, après la mort de 100000 dindonneaux grâce à une maladie inconnue. Ces dindonneaux se nourrissaient de la farine d'arachide Brésilienne contaminée par *Aspergillus flavus* (Stewart et al., 1965 ; Shuda, 2005 ; Pickova et al., 2021).

Il existe un total de 20 aflatoxines décrites, les plus importantes sont B1, B2, G1 et G2 et M1 (Shuda, 2005 ; Murphy et al., 2006 ; Bakirdere et al., 2012 ; Pickova et al., 2021).

Les aflatoxines sont synthétisées principalement par *Aspergillus flavus*. Cette espèce ne produit que des aflatoxines B. Des espèces tels que *A. parasiticus*, *A. nomius*, *A. bombycis*, sont capables de synthétiser les deux types G et B. Plusieurs autre espèces produisent les AFs tel que : *A. ochraceoroseus*, *A. parasiticus*, *A. parvisclerotigenus*, *A. pseudotamarii*, *A. rambellii*, *A. toxicarius*, *Emericella astellata*, *Emericella olivicola*, *Emericella venezuelensis* (Dijksterhuis et al., 2007).

Les aflatoxines B1 et B2 émettent une fluorescence bleue et les aflatoxines G1 et G2 émettent une fluorescence verte (Bakirdere et al., 2012).

La transformation métabolique de l'AFB1 donne la forme hydroxylée « AFM1 » qui se trouve dans le lait et les produits laitiers de l'animal qui se nourrit des aliments contaminés par l'aflatoxine. L'ingestion des doses élevées d'aflatoxines entraînent à une mort rapide (Bakirdere et al., 2012). Elles sont des molécules mutagènes, cancérigènes et tératogènes

(Bakirdere et al., 2012 ; Pickova et al., 2021). Elles possèdent également des effets hépatotoxiques, génotoxiques, immunosuppresseurs, néphrotoxiques et cytotoxiques. Les AFB1, AFB2, AFG1 et AFG2 sont classés comme cancérigènes de groupe 1 pour l'homme par le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) (Pickova et al., 2021). Il a été considéré que le foie est le principal organe cible de l'AFB1. La synergie entre l'AFB1 et les infections virales de l'hépatite B ou C peut provoquer un carcinome hépatocellulaire (CHC) (Bakirdere et al., 2012). Elles peuvent aussi provoquer des endommagements d'autres organes.

En 2020, selon la base de données RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed), les Aflatoxines étaient les plus souvent notifiées dans l'arachide, les figes sèches, les épices, le riz, les noix, les amandes et les pistaches (Pickova et al., 2021). Elle se trouve également dans le blé, le soja, le fromage, les viandes, le maïs, le beurre, le noix de coprah et le vin (Murphy et al., 2006).

3.1.1. Réglementation des aflatoxines :

En 2006, la Commission européenne a fixé de teneurs maximales pour les aflatoxines dans les denrées alimentaires (Tableau 01).

Tableau 01 (Partie 01) : Teneurs maximales en aflatoxines exprimées en µg/kg (AFSSA, 2007).

Aflatoxine	Matrice	Teneur maximale en µg/kg
B1	Arachides (cacahuètes) + autres graines + fruits secs	de 2,5 ou 8 selon le produit et son stade de transformation
	Céréales	2 ou 5 selon le produit et son stade de transformation
	Certaines épices	5
	Préparations à base de céréales et aliments pour nourrissons et enfants en bas âge	0.1

Tableau 01 (Partie 02) : Teneurs maximales en aflatoxines exprimées en µg/kg (AFSSA, 2007).

Aflatoxine	Matrice	Teneur maximale en µg/kg
B1+B2+G1+G2	Arachides (cacahuètes) + autres graines + fruits secs	De 4,10 ou 15 selon le produit et son stade de transformation
	Céréales	4 ou 10 selon le produit et son stade de transformation.
	Certaines épices	10
M1	Lait	0.05
	Préparations pour nourrissons et enfants en bas âge	0.025

3.2. Les Ochratoxines :

Elles sont produites par plusieurs espèces de genre *Aspergillus* et de genre *Penicillium* (Applegate et al., 1973). L'ochratoxine A est la principale toxine de ce groupe (Murphy et al., 2006). Elle a été isolée pour la première fois en 1965 en Afrique de Sud à partir d'*Aspergillus ochraceus* durant un dépistage des aflatoxines. Les principaux producteurs d'OTA sont des espèces de section *Nigri* (*Aspergillus niger*, *A. carbonarius*...), section *Flavi* (*A. alliaceus*, *A. lanosus*, *A. albertanses*...), section *Circumdati* (*A. melleus*, *A. sclerotiorum*, *A. Ostianus*, *A. petrakii*, et *A. auricomus*...) et des espèces de genre *Penicillium* (*P. chrysogenum*, *P. nordicum* et *P. verrucosum*...) (Bayman et al., 2006). Elle est caractérisée par la présence de chlore dans sa structure. L'OTB et L'OTC qui sont des dérivés de l'OTA, sont moins toxique et moins courants que lui (Bayman et al., 2006 ; Reddy et al., 2010). La formule brute de l'OTA est C₂₀H₁₈ClNO₆ avec une masse molaire de 403,8 g/mol. Elle est peu soluble dans l'eau et insoluble dans les hydrocarbures saturés. Elle possède une structure cristalline incolore à blanche avec une fluorescence verte sous l'UV en milieu acide et bleu en

milieu basique (**El Khoury et al., 2010**). L'OTC est classée par le IARC comme un cancérigène de classe de 2B probable pour l'homme (**Murphy et al., 2006**).

L'OTA possède un effet :

- Néphrotoxique :

La néphropathie est l'effet toxique majeur de l'OTA. Elle est soupçonnée d'être la cause d'une maladie chronique interstitielle affectant la population du sud-est de l'Europe (Croatie, Bosnie, Bulgarie et Roumanie) connue sous le nom de la néphropathie endémique des Balkans (BEN). Elle est également considérée comme la cause majeure de la néphropathie tunisienne affectant la population en Tunisie (**El Khoury et al., 2010**).

- Carcinogène :

Selon des études, lorsque l'OTA a été administrée dans l'alimentation des souris mâles, ils ont présenté des tumeurs hépatocellulaires, des tumeurs rénales, des hépatomes et des nodules hépatiques hyperplasiques. Dans une autre étude, des souris femelles ont développé des carcinomes hépatocellulaires et des adénomes suite à l'ingestion d'OTA dans leur régime alimentaire (**El Khoury et al., 2010**). Les personnes qui consomment plus de 70 µg / kg de poids corporel par jour d'OTA ont souvent un risque accru de développer des tumeurs rénales (**Reddy et al., 2010**).

3.2.1. Réglementation d'OTA :

En 1991, le Comité d'experts mixte FAO/OMS sur les additifs alimentaires (JECFA) a procédé à l'évaluation de l'OTA. À l'issue de cette évaluation, le comité a établi un niveau de tolérance hebdomadaire provisoire (PTWI) de 112 ng/kg de poids corporel.

En 1995, le JECFA a réévalué cette molécule et a confirmé que la quantité hebdomadaire tolérable provisoire était de 100 ng/kg de poids corporel par semaine. Ils ont également demandé des études supplémentaires sur l'OTA.

Le Comité scientifique de l'alimentation humaine (CSAH) a déclaré en 1998 que des études toxicologiques récentes et des données d'exposition ont conduit à accorder une attention spécifique aux groupes vulnérables, tels que les nourrissons et les enfants, ainsi qu'aux groupes de consommateurs exposés à des niveaux plus élevés d'OTA en raison de leurs habitudes alimentaires. Le comité a recommandé de minimiser autant que possible la consommation d'OTA en maintenant les niveaux quotidiens entre 1,2 et 14 ng/kg de poids corporel.

En 2002, la Commission européenne a limitée la contamination par OTA dans les céréales non transformées, y compris le riz et le sarrasin, jusqu'à 5 µg/kg. Pour les produits dérivés des céréales, tels que les céréales transformées, la limite de contamination a été fixée à 3 µg/kg. Les raisins secs ne doivent pas contenir plus de 10 µg/kg d'OTA, selon cette réglementation (El Khoury et *al.*, 2010).

Matière alimentaire

1. Synthèse bibliographique sur la plante de nigelle (*Nigella sativa*)

1.1. Généralité :

Le mot "nigella" est dérivé du mot latin "*nigellus*", qui signifie noir (**Malhotra, 2012 ; Ziadi et al., 2022**). Depuis des temps anciens, cette plante est utilisée comme épice et condiment. Des textes antiques grecs, romains et hébreux la mentionnent sous le nom de "cumin noir", que ce soit comme condiment ou comme ingrédient de la médecine à base de plantes. La région d'origine de *Nigella* s'étend de la Méditerranée à l'ouest de l'Asie jusqu'au nord de l'Inde (**Mahotra, 2012**). Il s'agit d'une plante annuelle herbacée qui se développe particulièrement bien sur des sols limoneux dans les régions tropicales et subtropicales (**Majeed et al., 2021**).

1.2. Classification de *Nigella sativa* :

Nigella sativa appartient au règne Plantae et à l'embranchement Magnoliophyta qui regroupe les plantes à fleurs. Elle est classée dans la classe de Magnoliopsida (dicotyledones), ce qui signifie qu'elle présente deux feuilles primordiales constitutive de la graine (**Glimn-Lacy et al., 2006 ; HALAMSKI et al., 2010 ; Hebidi, 2019**). Elle appartient à l'ordre Ranunculales, qui comprend sept familles (**FAYet Christenhusz, 2012 ; Johri et al., 2013**). Cette plante fait partie de la famille des Ranunculaceae, qui comprend environ 43 genres et plus de 2000 espèces. Elles sont des herbes vivaces ou annuelles, parfois des sous arbrisseaux ou des lianes herbacées ou ligneuses possédant des feuilles simples ou composées, alternes, basales et caulines, et souvent sans stipules. Elles ont une symétrie actinomorphe, mais rarement zygomorphe, et peuvent être solitaires ou regroupées en cymes, en racèmes ou en panicules. Ces plantes peuvent être monoïques ou dioïques. Les sépales sont au nombre de 2 à 5 ou plus, de couleur verte. Les pétales peuvent être présents ou absents, au nombre de 2 à 5 ou plus, libres et généralement munis de nectaires. Les étamines sont nombreuses, rarement peu nombreuses, libres et disposées en spirale. Les filaments sont linéaires ou filiformes. Les anthères sont à 2 loges, elles s'ouvrent longitudinalement lors de la déhiscence, et parfois elles peuvent présenter des staminodes. Les carpelles sont nombreux ou peu nombreux, rarement un, libres, rarement soudés, et disposés en spirale ou en verticilles sur des réceptacles renflés. L'ovaire contient de 1 à de nombreux ovules, anatropes. Le fruit est un follicule où un akène, rarement une capsule ou une baie, souvent avec des styles persistants. Les graines sont petites (**Xu et Deng, 2017**). Le genre *Nigella* regroupent environ 20 espèces (**Zheng et al., 2020**). Elles sont des plantes annuelles, dressées ou décombantes, glabres ou

pubescentes, portant des feuilles alternes, le plus souvent pennatiséquées. Les fleurs sont solitaires, roses, blanches, bleutées à jaunes. Calice à cinq sépales, souvent pétaloïdes, persistant ou caducs. Corolle à cinq pétales, souvent à onglet recourbé et limbe simple. Les étamines sont nombreux, d'abord dressés puis recourbés vers le bas. Ovaires de 2 à 10 carpelles (Zohary, 1983 ; Assi et al., 2016).

1.3. Morphologie de la plante :

La plante a une hauteur de 30 à 70 cm (Hossain et al., 2021). Elle est une herbe dressée possédant un système racinaire pivotant (Majeed et al., 2021). Sa tige a un diamètre de 0,65 à 0,98 cm tandis que, les racines ont une longueur de 12,74 à 15,08 cm. Les feuilles sont disposées de manière. Elles ont une forme linéaire à lancéolée. Les fleurs ont une couleur variant entre le rose, le blanc, le jaune, le bleu pâle ou le violet pâle. Le nombre de pétales est de 5 à 10, tandis que le nombre de sépales est de 4 à 6. Les graines sont contenues dans des capsules dont la taille varie de 0,4 à 1,7 cm. Elles sont de couleur noire et leur forme est aiguë, avec des angles vifs, ovale, tétrangulaire et plus effilée à l'extrémité (Figure 07) (Hossain et al., 2021).



Figure 07: Plante et graines de *Nigella sativa* (Desai et al., 2015)

1.4. L'origine, la production et le commerce international de nigelle :

C'est une plante annuelle originaire d'Afrique du Nord, d'Europe du Sud et d'Asie du Sud-Ouest, est elle cultivée dans divers pays du globe (**Kumari et Singh, 2021**). L'Inde et l'Égypte sont les principaux producteurs mondiaux de graines de nigelle. D'autres pays, tels que le Sri Lanka, le Bangladesh, le Népal, l'Égypte, l'Irak et le Pakistan, contribuent également à la production de ces graines (**Kour et Gani, 2021; Ahmed et al., 2022**). Le prix du commerce international des graines de nigelle indiennes varie de 2 258 USD à 2 750 USD par tonne, tandis que la valeur des graines égyptiennes est de 2 900 USD par tonne (**Rahman et al., 2020; Haque et al., 2022**). La culture de la nigelle en Algérie est limitée et se concentre principalement de manière traditionnelle dans les régions d'Ouargla, Biskra, Timimoune, Adrar et Skikda. La production nationale de graines oléagineuses en Algérie est nettement insuffisante pour répondre aux besoins de consommation. Par conséquent, le pays dépend largement des importations pour satisfaire sa demande. En 2007, par exemple, l'Algérie a importé plus de 1700 tonnes de graines oléagineuses, y compris la nigelle (**Hadjadj, 2008**). Les principales sources d'importation de nigelle en Algérie sont l'Inde, la Chine et la Syrie (**Hadjadj, 2015**).

1.5. Composition nutritionnelle de *Nigella sativa* :

- **Lipides:**

Les graines de nigelle contiennent un teneur élevé des huiles fixées (35,6 à 41,6 %). Elles sont également riches en acides gras essentiels, ainsi qu'en stérols bioactifs. La graine de cumin noir est principalement composée d'acides gras insaturés, dont une grande proportion d'acides gras polyinsaturés (59,7 %), suivie d'acides gras monoinsaturés (24,1 %) et d'acides gras saturés (16,1 %). L'acide linoléique est le principal acide gras polyinsaturé, représentant environ la moitié de la composition en acides gras, tandis que l'acide oléique est le principal acide gras monoinsaturé (24,1 %) (**Kirlan et al., 2021**).

Les acides gras polyinsaturés, tels que l'acide linoléique, l'acide linoléique, l'acide oléique et leurs dérivés (oxylipines..), jouent un rôle essentiel en tant que signaux de développement importants qui influencent la production de conidiospores asexuelles et de sclérotés chez plusieurs genres de champignons pathogènes des graines oléagineuses, notamment *Aspergillus* (*A. flavus* et *A. parasiticus*, *A. niger* et *A. nidulans*...), *Alternaria*, *Sclerotinia*, *Mucor* et *Neurospora*. L'absence de ces molécules est associée à un retard de la germination des spores, une réduction de la croissance et une perte de développement

des sclérotés, ce qui entraîne une diminution de leur capacité à coloniser les substrats **(Wilson et al., 2004 ; Dagenais et al., 2008)**.

Le β -sitostérol est le stérol prédominant trouvé dans la fraction insaponifiable d'huile de nigelle, avec une concentration de 1135 à 1182 $\mu\text{g/g}$ d'huile. D'autre part, la phosphatidylcholine, la phosphatidyléthanolamine, la phosphatidylsérine et le phosphatidylinositol sont les principales catégories de phospholipides présentes dans l'huile de graines nigelle **(Kirlan et al., 2021)**.

- **Les composés phénoliques**

Ils sont abondants dans l'huile des graines de nigelle, avec des concentrations variant de 1,02 à 1,40 mg équivalents d'acide gallique/g d'huile **(Kirlan et al., 2021)**. Les principaux composés phénoliques présents sont la thymohydroquinone, la dithymoquinone, les tanins, les triglycosides de flavanol et le kaempférol 3-O- β -D-glucosylgalactoside **(Mukhtar et al., 2021)**.

- **Protéines :**

La composition des graines de nigelle en protéines est de 16.0% à 19.9% **(Manoharan et al., 2021)**. L'analyse des acides aminés a révélé la présence de différents acides aminés essentiels et non essentiels en quantités variables. Les acides aminés majeurs dans les graines de cumin noir sont l'acide glutamique, l'acide aspartique, l'arginine et la glycine, qui sont des acides aminés non essentiels. Ils représentent environ la moitié de tous les acides aminés présents dans les protéines des graines de *N. sativa*. Parmi les acides aminés essentiels, la leucine est présente en plus grande quantité. On trouve également la valine, la lysine, la thréonine, la phénylalanine et l'isoleucine dans les graines de *N. sativa* **(Çakir et Gulseren, 2019)**.

- **Vitamins:**

Les graines de cumin noir sont une bonne source de vitamines liposolubles D, E, et K **(Vatansev et al., 2013)**. Les vitamines hydrosolubles, B1 (thiamine), B2 (riboflavine), B6 (pyridoxine), PP (niacine) et l'acide folique sont également des composants importants des graines de *N. sativa* **(Nergiz et Ötles, 1993 ; Manoharan et al., 2021)**.

- **Minéraux:**

La teneur en minéraux dans les graines de *Nigella sativa* varie de 1,8% à 3,7% (**Kabir et al., 2019**). Parmi les minéraux présents, le potassium, le sodium, le phosphore, le magnésium et le fer sont les principaux. Cependant, d'autres minéraux tels que le zinc, le cuivre, le calcium et le manganèse sont présents en concentrations relativement plus faibles (**Manoharan et al., 2021**).

- **Composition en carbohydrates, fibres et en eau :**

Les graines de *Nigella sativa* contiennent environ 33,9% de carbohydrates, 5,5% de fibres et une teneur en eau d'environ 6,0% (**Manoharan et al., 2021**).

1.6. Les maladies fongiques de nigelle :

Plusieurs maladies fongiques peuvent infecter la plant de *Nigella sativa*, parmi lesquelles On cite :

- ✓ **La pourriture des racines fusarienne :**

Elle est causée par différentes espèces du genre fongique *Fusarium*, est une maladie importante qui affecte les plantes de cumin noir (*Nigella sativa*). Les espèces de *Fusarium* responsables de cette maladie dans *Nigella sativa* sont *F. comptoceras*, *Fusarium lateritium* et *F. redolens*, en particulier *F. solani* (**Mohamed et al., 2017 ; Ölmez et al ., 2021**). Ces champignons infectent les racines de la plante, entraînant un brunissement et un ramollissement des extrémités des racines, des lésions des racines de tailles et de couleurs variables (rougeâtres, brunes et noires), un jaunissement des feuilles, ainsi qu'une croissance ralentie de la plante (**Williamson-Benavides et Dhingra, 2021**). Ces champignons sont considérés comme des pathogènes du sol et des semences (**Khaledi et Hassani, 2021**).

- ✓ **Le flétrissement fusarien :**

Le flétrissement fusarien est une maladie qui peut affecter le cumin noir (*Nigella sativa*) et est causée par le champignon *Fusarium oxysporum* (**Jibat et al., 2018**). Le champignon pénètre les racines et colonise le cortex racinaire ainsi que l'endoderme, puis se propage vers le xylème et colonise les feuilles et les tiges, entraînant la mort de la plante. Les symptômes comprennent une croissance retardée, un jaunissement des feuilles, une décoloration rougeâtre de la tige et la pourriture des racines... (**Okungbowa et Shittu, 2012**).

✓ **La brûlure alternarienne :**

C'est une maladie qui peut affecter le cumin noir (*Nigella sativa*). Elle est causée par le l'espèce *Alternaria brunsii* (Wako, 2020). Cette maladie est caractérisée par la présence des taches foliaires irrégulières de couleur brun à brun foncé. Ces taches regroupent pour former des grandes zones entraînant à la brûlure des feuilles (Mamgain et al., 2013).

2. Synthèse bibliographique sur la plante de lin (*Linum usitatissimum*)

2.1. Généralité :

Le nom scientifique *Linum* vient du mot celtique "lin" qui signifie "fil", tandis que "*usitatissimum*" est une expression latine signifiant le plus utile (Chao et al., 2017).

Le lin est une plante annuelle, habituellement semée en période printanière et qui se reproduit par autopollinisation. Elle est l'une des plus anciennes plantes cultivées à travers l'histoire. Sa culture remonte à 7000 av. J.-C., où elle était utilisée par les Mésopotamiens. Plus tard, les Égyptiens, Babyloniens, Grecs, Romains et d'autres civilisations l'ont également cultivé pour ses fibres. Pendant le Moyen Âge, le lin était le produit textile le plus important. Aujourd'hui, Elle est considéré une des cinq principales cultures de graines oléagineuses au monde et la troisième plus grande culture de fibres naturelles. Les qualités textiles de la fibre de lin surpassent celles du coton (Schilperoord, 2018).

2.2. Classification de la plante:

Linum usitatissimum appartient au règne Plantae et à l'embranchement Magnoliophyta qui regroupe les plantes à fleurs. Elle est classée dans la classe de Magnoliopsida (dicotyledones), ce qui signifie qu'elle présentes deux feuilles primordiales constitutive de la graine (Glimn-Lacy et al., 2006 ; HALAMSKI et al., 2010 ; Hebidi, 2019). Elle appartient à l'ordre Malpighiales, qui regroupe 13 ordres, 42 famille et 16000 espèce (Wurdack et Davis, 2009 ; Nag et al., 2015 ; Mishra et Poonia, 2021). Cette plante fait partie de la famille des Linaceae, qui comprend 14 genres et environ 250 espèces, cependant, *Linum usitatissimum* est la seule espèce cultivée (Sanhi, 2023). Elles sont des plantes qui peuvent être des lianes, des arbres, des arbustes ou des herbes. Elles ont des stipules latérales et des feuilles disposées en spirale ou en distique. Les fleurs sont hypogynes, avec des pétales caducs et contournés. Elles n'ont pas de disque floral. Les filaments des étamines sont fusionnés à la base pour former un tube. Les fruits sont des drupes ou des capsules. Les graines ne pas persistantes et les stomates

sont de type paracytique (**Van et Nooteboom, 1984**). Le genre auquel *Linum usitatissimum* appartient est le genre *Linum*, qui comprend environ 230 espèces (**Nag et al., 2015 ; Mishra et Poonia, 2021 ; Nada, 2022**).

2.3. Morphologie de la plante :

Le lin est une plante annuelle qui pousse jusqu'à 120 cm de hauteur et développe des tiges robustes, élancées, minces, avec un diamètre d'environ 1,4-1,6 mm (**Schilperoord, 2018**). Les feuilles sont linéaires-lancéolées, de couleur verte, disposées de manière alternée et mesurent entre 20 et 40 mm de longueur et 3 mm de largeur (**Schilperoord, 2018 ; Saleem et al., 2020**). Les fleurs de lin sont d'un diamètre de 15 à 25 mm. Elles sont principalement de couleur bleu pâle, mais peuvent varier. Elles possèdent une structure florale pentamère, c'est-à-dire que ses organes floraux se présentent en cinq parties. Elles sont composées de 5 sépales, 5 pétales et 5 étamines. La capsule, nommée aussi clochette, est formée par 5 lobes unis, chacune d'entre elles générant 2 graines. Par conséquent, chaque clochette peut renfermer jusqu'à 10 graines au maximum. Elle sèche et ronde d'un diamètre de 5 à 9 mm (**Schilperoord, 2018**). Les graines de lin sont brunes brillant et mesurent entre 4 et 7 mm de longueur. Les noyaux sont à la fois croustillants et moelleux, avec un goût plaisant. Cette plante herbacée possède un système racinaire peu profond qui peut atteindre une profondeur allant de 92 à 122 cm dans les sols à texture grossière avec un diamètre de 1.2-2 mm (Figure 08) (**Nag et al., 2015 ; Saleem, 2020**).

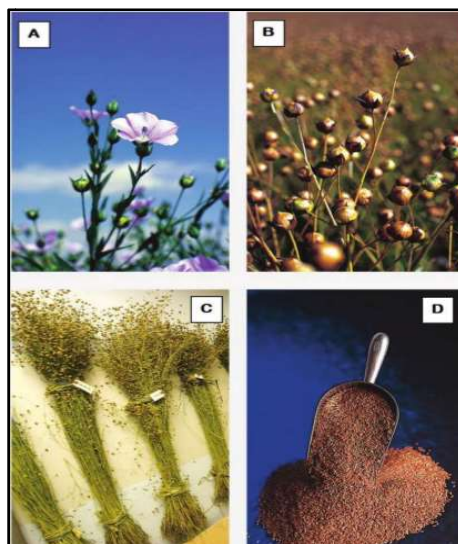


Figure 08 : Le lin : (A) Fleur, (B) Fruit, (C) Plante séchée,
(D) Graines (**Mishra et Poonia, 2021**).

2.4. L'origine, la production et le commerce international de lin :

Linum usitatissimum est une plante originaire de l'Asie de l'Ouest, des terres côtières méditerranéennes et de l'Asie Mineure (Badole, et Bodhankar, 2012). Elle est aujourd'hui cultivée dans plus de 50 pays à travers le monde, parmi lesquels le Canada, L'Inde, la Chine, l'Argentine et les États-Unis sont les principaux pays producteurs (Nosevich et al., 2020 ; Sravropoulos et al., 2023). Elle est également cultivée en Russie, en Uruguay, au Pakistan, au Japon, au Maroc, en Australie, en Irlande... (Sanahi, 2023). La culture du lin occupe une superficie de 2,5 à 3,2 millions d'hectares dans la production agricole mondiale, avec une récolte de graines d'environ 1,9 à 2,7 millions de tonnes. Cela représente moins de 1% de la superficie totale consacrée aux cultures maraîchères à l'échelle mondiale (Nosevich et al., 2020). L'Asie occupe la plus grande part avec 35,4% de la production totale (Bahadorian et al., 2023). En 2020, le Canada et la France étaient les deux plus grands exportateurs de graines de lin et de fibres de lin, respectivement. On estime que le marché du lin est en expansion rapide, ce qui témoigne d'un intérêt renouvelé, attribuable peut-être aux récents développements de la recherche, ainsi qu'à la reconnaissance des multiples applications du lin (Sravropoulos et al., 2023).

2.5. Composition nutritionnel des graines de lin :

- **Lipides :**

La graine de lin est la source végétale la plus abondante en acide gras oméga-3, notamment l'acide alpha-linolénique, qui représente plus de la moitié de la quantité totale d'acides gras (Vergheze, 2011). Les deuxième et troisième acides gras les plus dominants dans l'huile de lin sont l'acide oléique et l'acide gras oméga-6 essentiel, l'acide linoléique (LA), avec des proportions respectives de 11 à 29% et 9 à 21% (Johnsson, 2009). L'acide linoléique (LA) est largement répandu dans le règne végétal et se trouve en abondance dans la plupart des graines végétales (Vergheze, 2011). Plus de 90% des lipides présents dans les graines de lin se présentent sous forme de triacylglycérols, tandis que le reste est composé d'acides gras libres, de phospholipides, de stérols et d'esters de stérols. Les principaux stérols présents sont le sitostérol, le cycloarténol et le campestérol, représentant ensemble 75% des stérols totaux (Johnsson, 2009).

- **Protéines :**

Les graines de lin sont riches en protéines, constituant jusqu'à 23 % de leur poids total (Wu et al., 2019). Les cotylédons des graines renferment la plus grande quantité de protéines. Elles se présentent principalement sous la forme de globulines (environ 80 %) et de glutéline (environ 20 %) (Raghuwanashi et al., 2019). La teneur en acides aminés pour 100 g de graines de lin est la suivante : acide glutamique 26,92g, arginine 10,63g, asparagine 9,76g, leucine 6,82g, glycine 6,14g, phénylalanine 5,33g, proline 5,24g, sérine 5,88g, isoleucine 5,21g, valine 5,17g, thréonine 4,19g, lysine 4,18g, cystéine 3,80g, tyrosine 2,94g, histidine 2,45g, méthionine 2,20g et tryptophane 1,38g (Mueed et al., 2022).

- **Minéraux :**

Les principaux minéraux présents dans les graines de lin sont le K (813mg/100g), le P (642mg/100g), le Mg (392mg/100g), le Ca (255mg/100g) et le Na (30mg/100g). Elles contiennent également des oligo-éléments tels que, le Fe (5.37mg/100g), le Zn (4.34mg/100g), le Mn (2.48mg/100g), le Cu (1.22mg/100g) et le Se (25.4 µg/100g)... (Özcan et Degerli, 2019 ; Sravropoulos et al., 2023).

- **Vitamines :**

L'huile de lin est une source riche en vitamines liposolubles, notamment les tocophérols α , β , γ et δ . La teneur totale en tocophérols dans l'huile de lin varie généralement entre 40 et 50 mg pour 100 g. Parmi ces tocophérols, le γ -tocophérol est le plus abondant, représentant plus de 80 % de la teneur totale en tocophérols. Les quantités spécifiques de tocophérols α , β , γ et δ dans 1 g de graines de lin crues sont les suivantes : α -tocophérol - 6,26 µg/g, β -tocophérol - 1,07 µg/g, γ -tocophérol - 302,0 µg/g et δ -tocophérol - 2,26 µg/g (Özcan et Degerli, 2019, Mueed et al., 2022). En plus des tocophérols, les graines de lin contiennent également d'autres vitamines telles que la vitamine C (0,6 mg/100 g), la vitamine K (4,3 µg/100 g) et la vitamine B-6 (0,473 mg/100 g) (Sravropoulos et al., 2023).

- **Composition en carbohydrates, fibres et en eau :**

Pour chaque 100g de graines, les graines de *Linum usitatissimum* contiennent environ 28.9g de carbohydrates, 27.3 g de fibres et 6.96g de l'eau (Sravropoulos et al., 2023).

2.6. Les maladies fongiques de lin :

Les maladies du lin sont principalement causées par des agents pathogènes fongiques. Parmi ces maladies On cite :

✓ Le flétrissement fusarien :

C'est une maladie qui se manifeste à différents stades de croissance des plantes. Les symptômes comprennent la mort des plantules, le brunissement et le dessèchement des parties supérieures des plantes. Les racines deviennent grises et les tiges nécrotiques et cassantes. *Fusarium oxysporum* est l'agent causal principal de cette maladie. Il se trouve principalement dans le sol ou il se propager par le vent, le ruissellement des sols, les semences infectées et les débris végétaux (Muir et Westcott, 2003).

✓ La brûlure alternarienne :

C'est une maladie qui affecte les plantules, les fleurs et les feuilles du lin, causant des brûlures et réduisant ainsi la qualité et la viabilité des graines récoltées à partir de plantes malades. Les plantules touchées présentent un retard de croissance et des lésions rouges foncées sur les hypocotyles et les cotylédons, ce qui entraîne leur effondrement en une à deux semaines. Les trois principales espèces responsables de cette maladie sur le lin sont *Alternaria linicola*, *A. alternata* et *A. infectoria*. D'autres espèces telles que *A. lini* ont également été signalées (Muir et Westcott, 2003 ; Singh et al, 2016)

Matériels et méthodes

1. Echantillonnage :

Trente Cinq (35) échantillons composés de quinze (15) échantillons de graines de lin et vingt (20) échantillons de nigelle commercialisés en Algérie (Bouira) ont été prélevés de plusieurs points de vente (marchés, supérettes et épiceries) pendant la période de 02 février à 11 mars. La répartition selon l'origine, la nature et le nombre d'échantillons analysés sont résumés dans le tableau 02 :

Tableau 02: Répartition des échantillons analysés selon l'origine et la nature.

	Nigelle			Graines de lin		
	Epicerie	Marché	Superette	Epicerie	Marché	Superette
• Bouira ville	04	-	01	07	-	-
• Bir Ghablou	02	01	02	01	01	-
• Ain bessam	05	03	01	05	-	-
• Ain El Hadjar	01	-	-	01	-	-
Totale	20			15		

2. Milieux de culture :

Quatre milieux de culture (composition en annexe I) ont été utilisés pour l'isolement, la purification et l'étude de pouvoir mycotoxigène des moisissures de lin et de nigelle.

- Milieu de PDA, CYA, MEA, utilisés pour l'isolement, l'identification et la purification des isolats.
- Milieu CAM, utilisé pour l'étude de la pouvoir mycotoxigène des isolats d'*Aspergillus flavus*.

3. Préparation des diluants :

Pour chaque litre d'eau distillée, on a ajouté quatre gouttes de solution de Tween 80, puis on a mélangé. Ensuite, Le diluant a été divisé dans des flacons en verre, à raison de 90ml par

chaque flacon. En parallèle, des tubes contenant 9 ml de diluant ont été préparés. Les flacons et les tubes ont été autoclavés dans l'autoclave à 121°C pendant 20min.

4. Isolement et dénombrement de la flore fongique :

L'isolement des moisissures a été réalisé selon la méthode de suspension dilution. Dix (10) grammes de chaque échantillon broyé ont été pris et ajoutés à 90 ml de diluant. Les suspensions obtenues ont été ensuite agitées pendant 20 minutes sur une plaque agitatrice, correspondant ainsi à une dilution de 10^{-1} . Après, 1 ml de chaque dilution 10^{-1} a été prélevé à l'aide d'une micropipette et mélangé avec 9 ml de diluant dans un tube à vis, créant ainsi une dilution de 10^{-2} . Par la suite, 1 ml de la dilution 10^{-2} a été prélevé et ajouté à un autre tube contenant 9 ml de diluant, produisant ainsi une dilution de 10^{-3} . Un volume de 100 µl de chaque dilution 10^{-1} , 10^{-2} et 10^{-3} a été ensemencé sur des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA. Après incubation à 30°C pendant 5 jours, le dénombrement a été effectué en sélectionnant les boîtes contenant un nombre de colonies compris entre 10 et 150. Les résultats obtenus sont exprimés en unités formant colonies par gramme (UFC/g) (Figure 09).

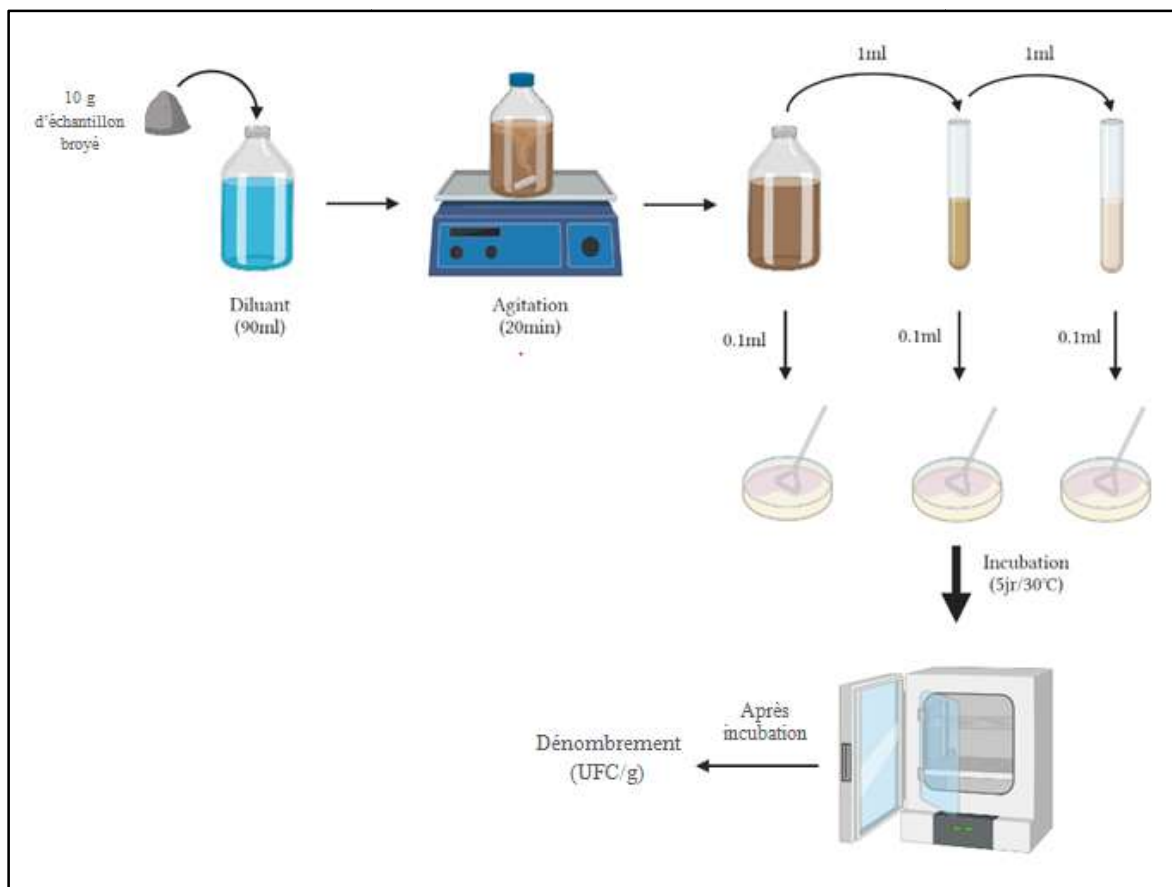


Figure 09: Technique d'isolement par la méthode de suspension dilution.

5. Identification des isolats obtenus :

L'identification des isolats fongiques est basée sur l'observation des caractères macroscopiques et microscopiques.

5.1. Identification macroscopique :

Elle est réalisée suite à l'observation des caractères culturaux des souches purifiées après leur croissance sur des milieux spécifiques (PDA, CYA, MEA). Les différents caractères utilisés dans cette étapes sont : l'aspect de la colonie (forme, couleur, texture, taille), la pigmentation...

5.2. Identification microscopique :

Elle est réalisée en observant les caractéristiques microscopiques de souches obtenues telles que la forme, la surface et la taille des spores, le cloisonnement des filaments et la pigmentation des structures fongiques, ainsi que la présence de structures spécifiques telles que les têtes aspergillaires ou les sporocystes. Elle a été effectuée par un prélèvement direct avec un ruban adhésif.

5.2.1. Méthode de prélèvement direct avec un ruban adhésif :

Un fragment de la colonie fongique a été prélevé directement à l'aide d'un ruban adhésif transparent. Une fois le prélèvement a été effectué, le ruban adhésif a été placé sur la lame et observée sous différents grossissements ($G \times 10$, $G \times 40$ et $G \times 100$) (Figure 10).

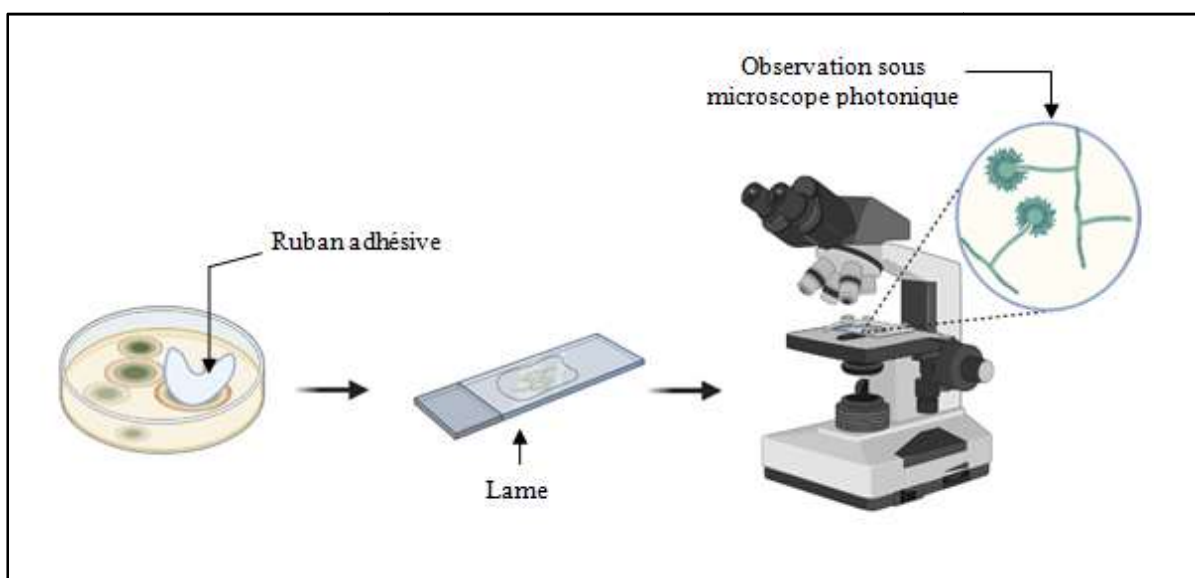


Figure 10 : Méthode de prélèvement direct avec la technique du drapeau.

6. Repiquage et Purification :

Afin d'obtenir des souches pure, L'ensemble des souches isolées et identifiées ont été repiquées en prélevant un fragment de colonie avec une anse stérilisée, en évitant tout contact avec les autres colonies adjacentes sur le milieu PDA. Ce fragment a été déposé au centre d'une nouvelle boîte où la date de repiquage et les informations de la boîte de prélèvement ont été indiquées. Le repiquage a été effectué de manière aseptique près du bec Bunsen et les boîtes ont été incubées à 30°C pendant 5 jours (Figure 11).

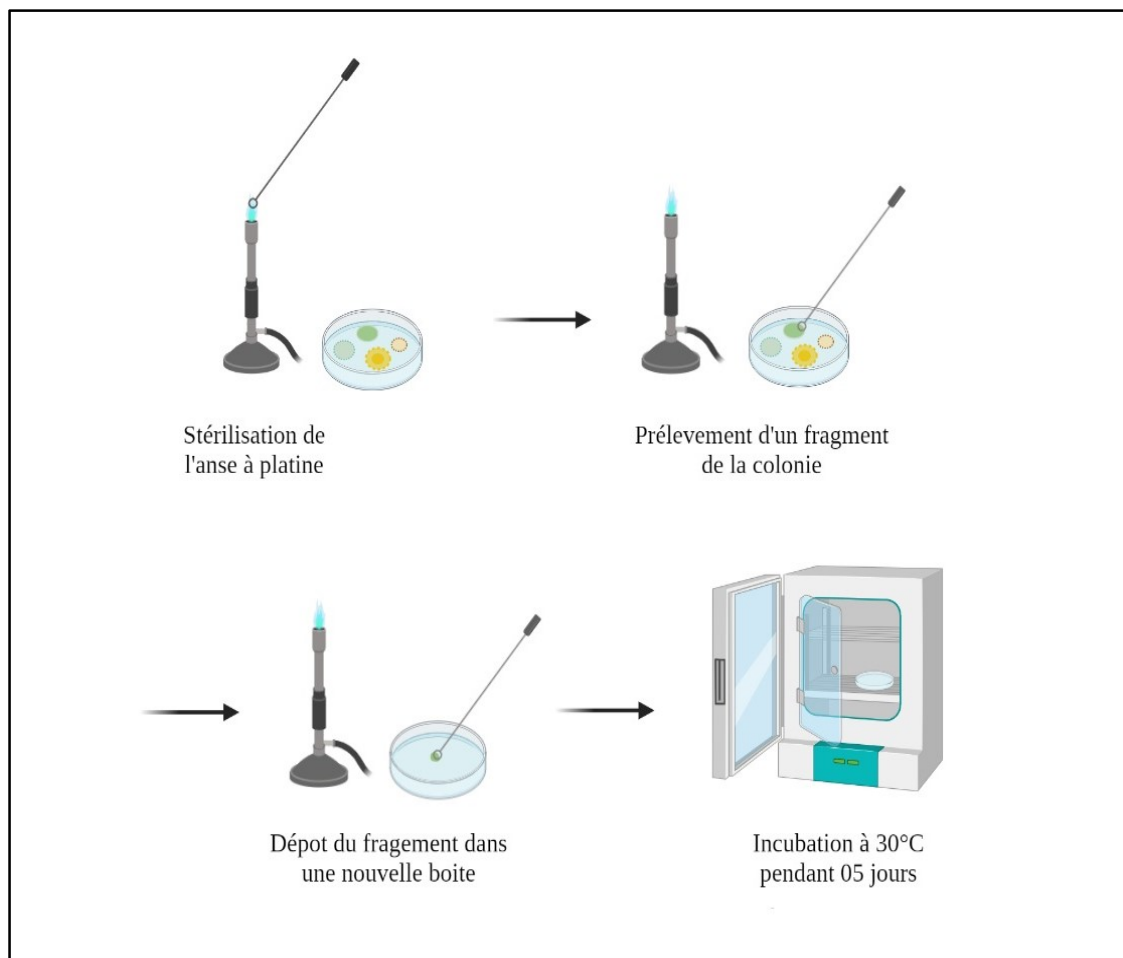


Figure 11: méthode de repiquage et purification des souches.

7. Etude de la production des mycotoxines :

7.1. Etude de pouvoir producteur des aflatoxines :

Pour étudier le pouvoir producteur des aflatoxines par les isolats d'*Aspergillus flavus*. Onze souches de cette espèce ont été repiquées dans des boîtes de pétri contenant le milieu CAM, puis elles ont été incubées pendant 05 jours à 30°C. Après le développement des colonies, les souches ont été observées sous la lumière ultra violette à longueur d'onde de 365nm, ce qui permet de mettre en évidence la capacité de production des aflatoxines par les souches via l'émission d'une fluorescence bleu sur le verso de la boîte.

8. Production des sclérotés :

La production des sclérotés par les *Aspergillus* section *flavi* (caractère taxonomique important pour distinguer certaines espèces de cette section) est réalisée selon la méthode décrite par **Novas et Cabral (2002) ; Abbas et al (2006)**. Onze isolats d'*Aspergillus flavus* ont été cultivés sur milieu CYA pendant 14 jours à 30°C à l'abri de la lumière. Les sclérotés produits se présentent sous forme d'une masse mycélienne compacte qui est souvent dure, globuleuse et de couleur blanche au début, mais qui devient noire avec le temps. Ces sclérotés sont considérés comme des organes de conservation.

Pour déterminer leur morphotype, les sclérotés sont placés sur un morceau de papier millimétré dans le couvercle d'une boîte de Pétri, puis leur diamètre est mesuré sous microscope photonique (G×10). Les isolats de morphotype « L » produisent des sclérotés de taille supérieures à 400 µm, tandis que Les isolats de morphotype « S » produisent des sclérotés de taille inférieurs à 400 µm.

Résultats et discussions

1. Analyse de la flore fongique des échantillons :

1.1. Identification des genres et des espèces :

En se basant sur l'étude des caractères macroscopiques des boîtes (couleur, aspect recto et verso des colonies, etc.) et des caractères microscopiques (forme des filaments et des spores), des souches fongiques appartenant aux genres *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Mucor* ainsi que des levures ont été identifiées.

- **Le genre *Aspergillus* :**

L'observation macroscopique des colonies d'*Aspergillus sp* montre un aspect cotonneux, granuleux à poudreux..., de couleur variable selon l'espèce. L'identification microscopique repose essentiellement sur la mise en évidence des têtes aspergillaires. Les espèces d'*Aspergillus* isolées dans l'ensemble des échantillons étudiés sont : *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* et *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus carbonarius*.

- ***Aspergillus niger* :**

Les colonies d'*Aspergillus niger* sont granuleuses constituées d'un feutre basal blanc ou jaune compact, recouvert d'une couche dense de têtes conidiales allant du brun foncé au noir. L'observation microscopique montre des conidiophores lisses, cloisonnés, hyalins qui deviennent brunâtre vers la vésicule. Les têtes aspergillaires sont grandes, globuleuses, brun foncés portant des conidies globuleuse de couleur brun foncés (Figure 12).

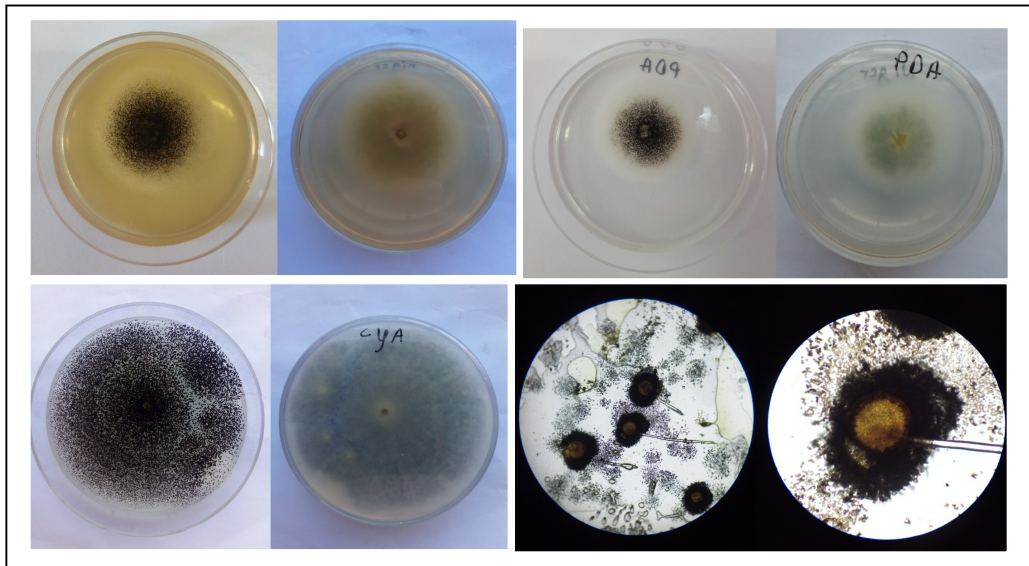


Figure 12 : aspect macroscopique d'*Aspergillus niger* sur milieu PDA, CYA et MEA respectivement avec l'aspect microscopique observé sous microscope photonique (G×10 et G×40).

- *Aspergillus carbonarius* :

Les colonies de cette espèce sont granuleuses de couleur brun à noire au recto et jaunâtre au verso. L'observation microscopique montre des Filaments hyalins et septés. Têtes aspergillaires globuleuses et brun foncés. Conidies globuleuse, petite et de couleur brun foncés (Figure 13).

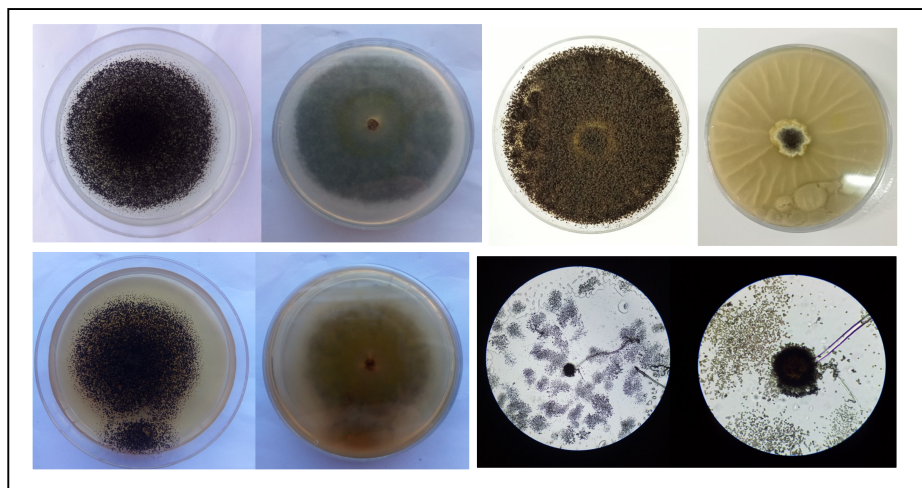


Figure 13 : aspect macroscopique d'*Aspergillus carbonarius* sur milieu PDA, CYA et MEA, respectivement avec l'aspect microscopique observé sous microscope photonique ((G×10 et G×40).

- *Aspergillus fumigatus* :

Les colonies sont de couleur bleu-vert avec des bords blancs au recto et de couleur jaune pâle au verso. L'observation microscopique montre des conidiophores courts et lisses. Filaments cloisonnés, Ils possèdent une vésicule terminale en forme de cône de petite taille, qui supporte des phialides sur les deux tiers supérieurs de la vésicule. Les conidies sont vertes, globuleuses à subglobuleuses et leur paroi est rugueuse (Figure 14).

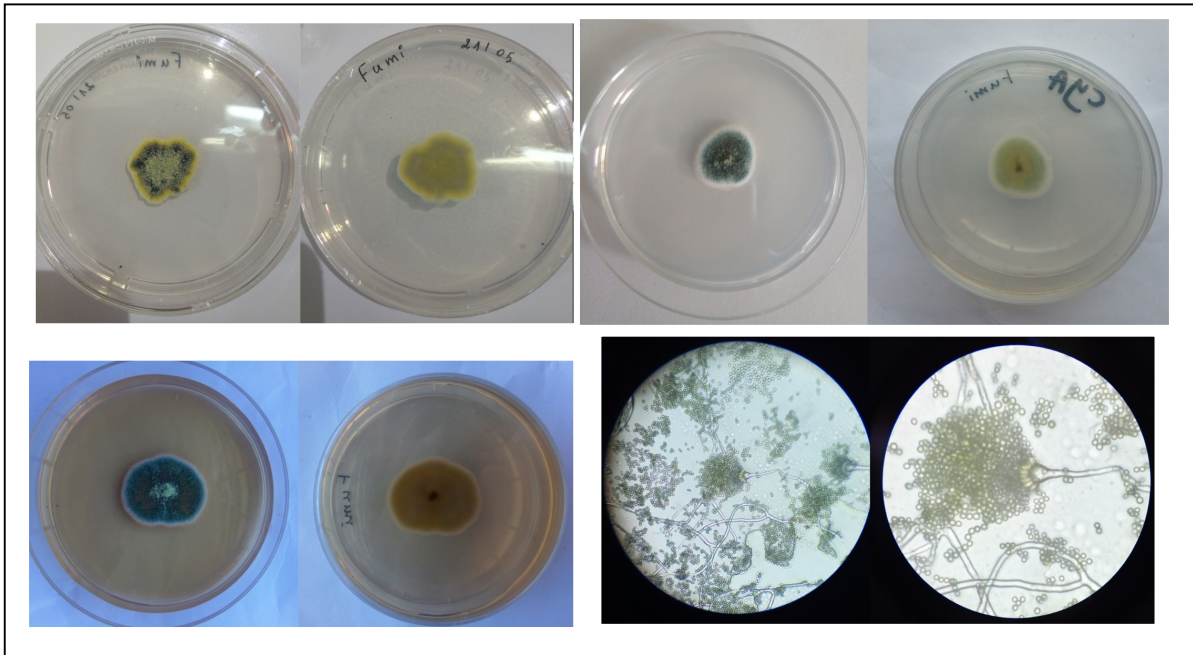


Figure 14 : aspect macroscopique d'*Aspergillus fumigatus* sur milieu PDA, CYA et MEA, respectivement avec l'aspect microscopique observé sous microscope photonique ((G×10 et G×40).

- *Aspergillus flavus* :

Les colonies sont d'abord de couleur blanche, puis jaune, puis vert-jaune. Le verso de la colonie est brun. L'observation microscopique montre des conidiophores sont hyalins, filament cloisonnés, têtes conidiales radiées. Les conidies sont vertes claires, globuleuses à subglobuleuses et échinulées (Figure 15).

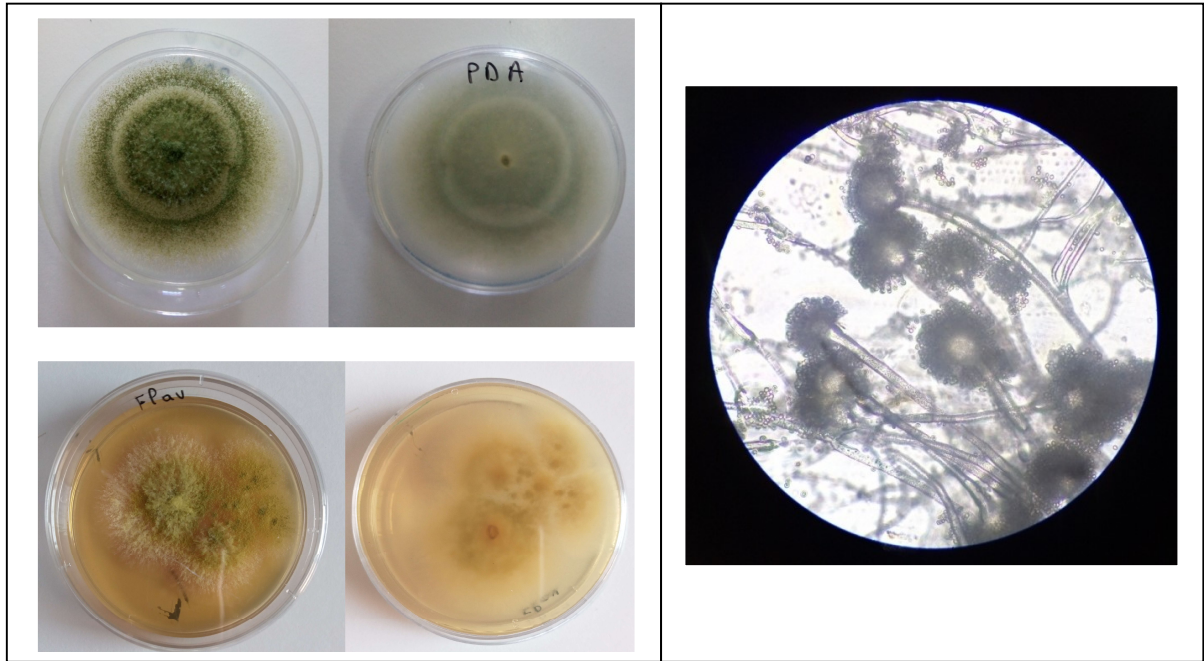


Figure 15: aspect macroscopique d'*Aspergillus flavus* sur milieu PDA et MEA, respectivement avec l'aspect microscopique observé sous microscope photonique (G×40).

- ***Aspergillus terreus* :**

Les colonies présentent une texture semblable au daim, de couleur cannelle beige à brun sable, avec un verso jaune à brun. L'observation microscopique montre des têtes sont compactes, colonnaires et bisériés. Les conidiophores sont hyalins avec une paroi lisse. Les conidies sont globuleuses à ellipsoïdales, hyalines à jaune pâle, avec une paroi lisse.

- **Le genre *Penicillium* :**

Macroscopiquement, les colonies de *Penicillium* se développent rapidement et se possédant une texture veloutée à poudrée, de couleur bleu grisâtre avec des bords blancs au recto et de couleur bleu grisâtre ou jaune avec des bords blancs au verso.

A l'échelle microscopique, elles se caractérisent par des hyphes cloisonnés et des spores disposées en chaînes basipétales, créant une apparence de pinceau. Cette caractéristique est considérée comme un critère d'identification important pour ce genre (Figure 16).

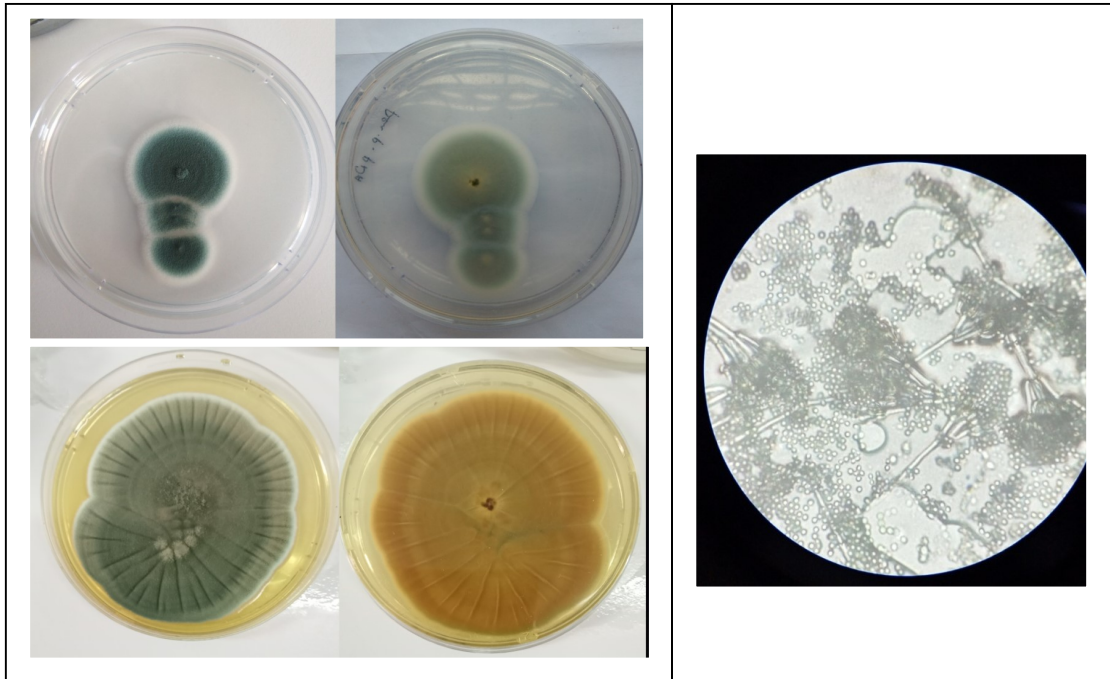


Figure 16 : aspect macroscopique de *penicillium sp* sur milieu PDA et CYA, respectivement avec l'aspect microscopique observé sous microscope photonique (G×100).

- **Le genre *Rhizopus* :**

Les colonies de *Rhizopus sp* sont envahissantes de couleur grise. À l'échelle microscopique, les filaments sont siphonnés. Les sporangiophores portent un sporocyste globuleux contenant des sporangiospores de couleur brun à l'intérieur avec la présence de rhizoïdes (Figure 17).

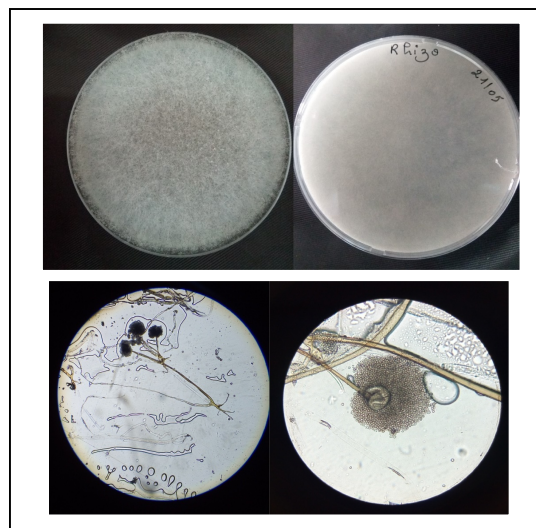


Figure 17 : aspect macroscopique de *Rhizopus sp* sur milieu PDA avec l'aspect microscopique observé sous microscope photonique (G×10 et G×40).

- **Le genre *Alternaria* :**

Les colonies possèdent une croissance rapide et atteignent un diamètre de 3-9cm. Ils sont plates, duveteuses à laineuses, de couleur blanc grisâtre au début puis deviennent verdâtres-noires à brun olive, avec des bordures claires. Le verso de la colonie est brun à noir. L'observation microscopique montre des hyphes bruns et cloisonnés. Les conidiophores sont également cloisonnés et bruns. Ils portent des conidies larges, simples ou ramifiées avec des cloisons transversales et longitudinales. Elles apparaissent seules ou regroupées en chaînes acropétales. Elles ont une forme ovoïde à obclavée de couleur foncée (Figure 18).

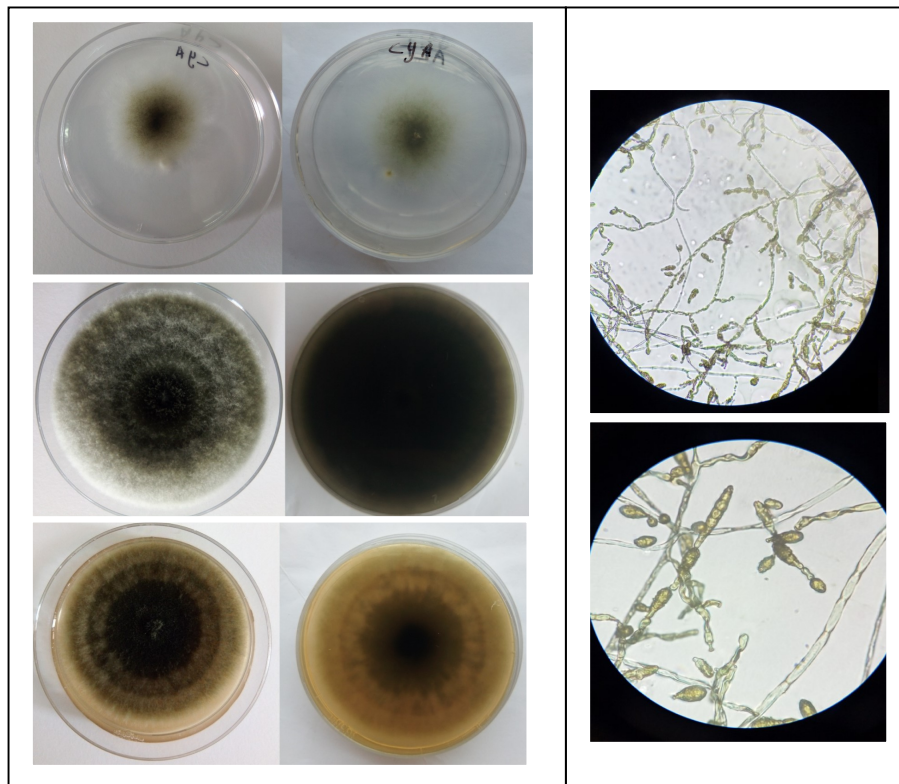


Figure 18: aspect macroscopique d' *Alternaria* sp sur milieu PDA, CYA et MEA, respectivement avec l'aspect microscopique observé sous microscope photonique (G×40 et G×100).

- **Le genre *Cladosporium* :**

Les colonies présentent une texture veloutée à poudreuse, d'une couleur verte olive au recto et une couleur noire au verso. L'observation microscopique montre des hyphes sont brunâtres et septés. Les conidiophores et les conidies sont pigmentés. Les conidies ont généralement en forme elliptique à cylindrique et se regroupent en chaînes ramifiées qui se désarticulent facilement. Leur paroi peut être lisse ou occasionnellement échinulée (Figure 19).

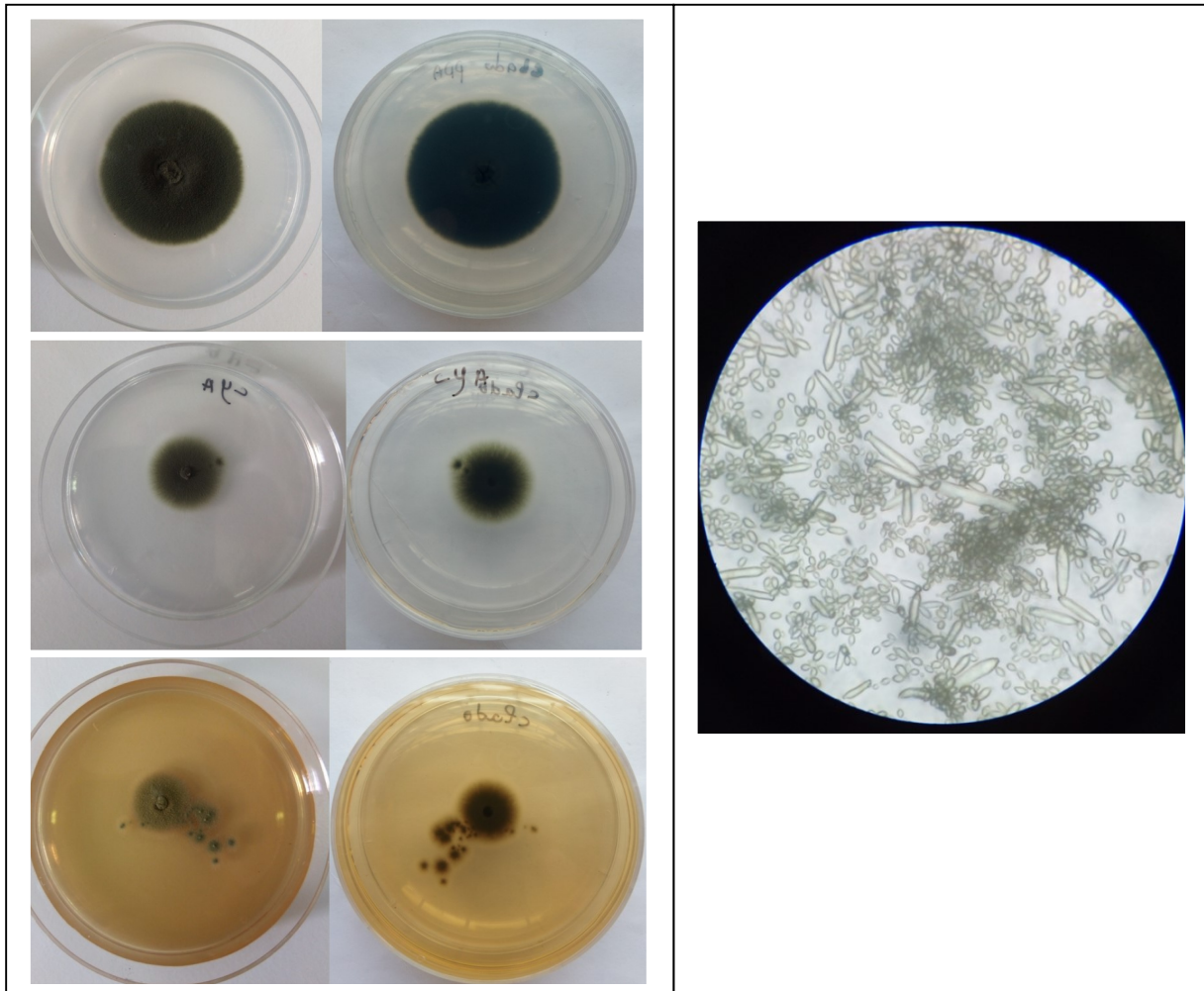


Figure 19: aspect macroscopique d' *Alternaria sp* sur milieu PDA, CYA et MEA, respectivement avec l'aspect microscopique observé sous microscope photonique (G×40).

- **Le genre Mucor :**

L'observation macroscopique de Mucor montre des colonies à croissance très rapide et extensive, présentant une texture laineuse. La surface des colonies varie en couleur du blanc au gris, tandis que le verso est incolore. A l'échelle microscopique, elle se distingue par ses filaments larges, peu ou non septés et ses sporocystophores qui se terminent par une columelle de forme avoïde, sans apophyse. Les spores de Mucor sont arrondies à ellipsoïdales et peuvent être lisses ou ornementées de spicules avec l'absence des rhizoïdes.

- **Les levures :**

L'observation macroscopique des levures révèle de petites colonies lisses, bombées et de couleur crème. À l'échelle microscopique, elles sont de taille plus grande que les bactéries. Elles présentent une forme ovale et possèdent une paroi cellulaire lisse et régulière. Au cours de leur croissance, elles peuvent former des bourgeons.

1.2. Charge totale et taux de contamination des échantillons par les champignons (nombre d'échantillons contaminés) :

Les résultats de dénombrement effectués sur le milieu PDA présentent une diversité de contaminants fongiques dans les échantillons analysés. Ces résultats sont exprimés en UFC/g après un comptage de nombre de colonies. La charge totale de la flore fongique est de $3931,5 \pm 2669,2$ UFC/g dans l'ensemble des échantillons de nigelle et de $3750 \pm 2543,3$ UFC/g dans l'ensemble des échantillons de lin (Figure 20). Les champignons sont les microorganismes les plus dominants dans le stockage de céréales (**Amza, 2018**). Les grains de céréales offrent un environnement excellent pour la croissance des moisissures, où la présence de la flore fongique de stockage joue un rôle essentiel dans la dégradation et la production de mycotoxines (**Belmahdi, 2019**).

Le taux de contamination des échantillons de nigelle par les champignons est 100% qui constitue le totale d'échantillons analysés (20/20), tandis que le taux de contamination des échantillons de lin par les champignons est 66.6% qui constitue 10 échantillons de l'ensemble de 15 échantillons analysés (Figure 21). L'absence de contamination dans cinq échantillons de lin peut être attribuée à l'utilisation de fongicides qui sont couramment utilisés dans les pratiques agricoles pour lutter contre les infections fongiques et garantir la santé des cultures.

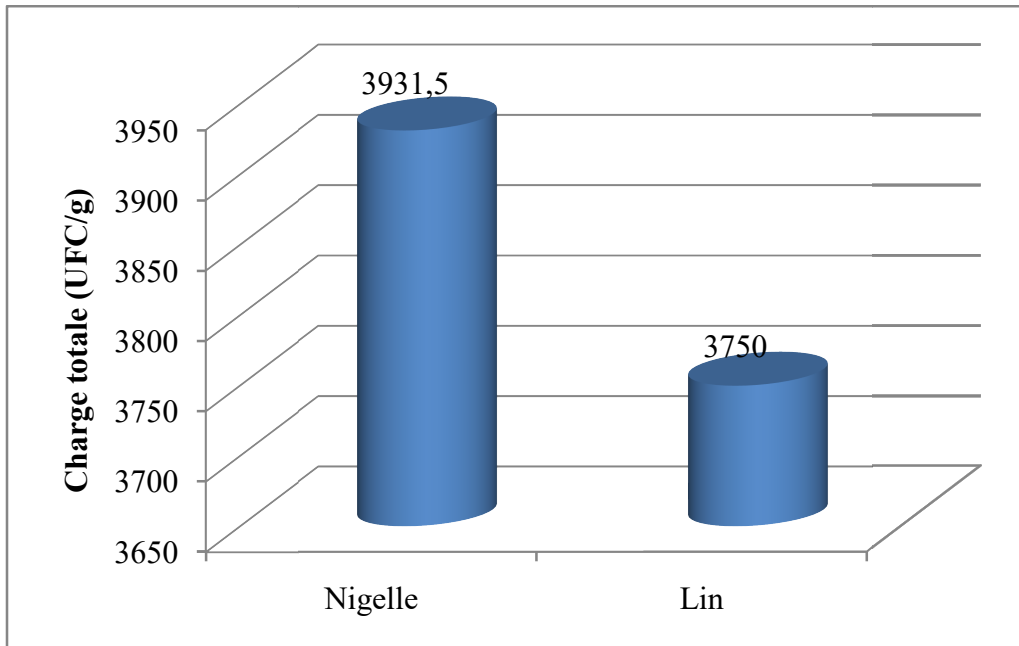


Figure 20: Densité de la flore fongique totale (UFC/g) des différents échantillons analysés.

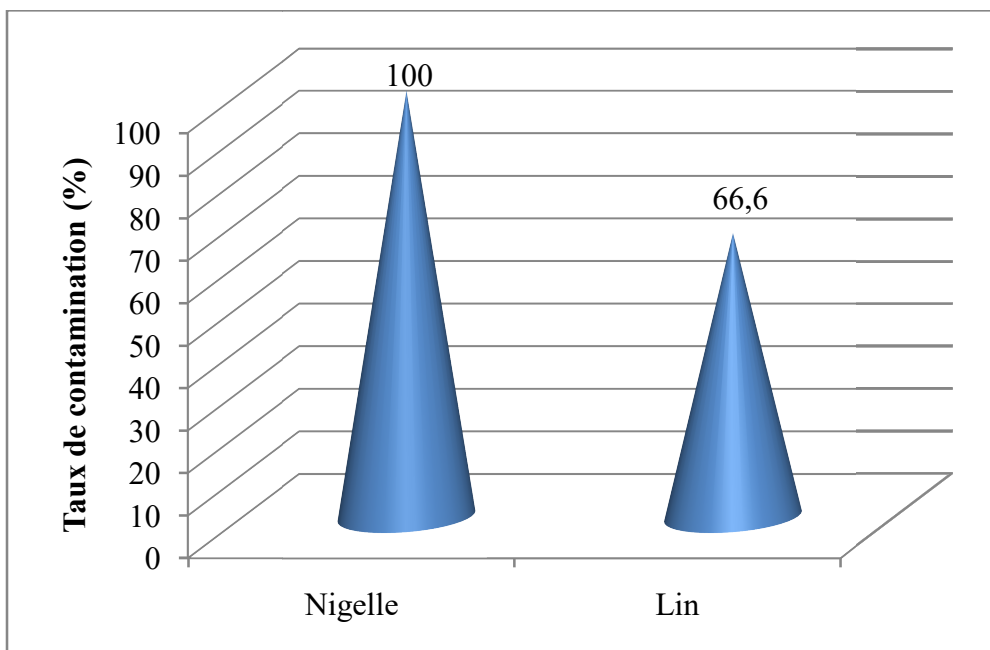


Figure 21 : Taux de contamination des échantillons par les champignons.

1.3. Distribution des champignons :

Nos résultats montrent que l'*Aspergillus* est le genre le plus dominant dans les échantillons de nigelle avec un taux de 78.07%. Les genres *Penicillium*, *Rhizopus* et *Mucor* sont moins dominant qu'*Aspergillus*, avec un taux de 20.02%, 1.46% et 0.45%, respectivement (Figure 22).

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Bokhari (2007)**, qui a trouvé une dominance de genre *Aspergillus* avec un taux de 77.95%, suivi par *Penicillium* (21.13%), *Rhizopus* (0.67%) et *Mucor* (0.23%). L'analyse de la microflore associés au graines de nigelle commercialisées en Egypte a révélé la présence de deux genres *Aspergillus* et *Penicillium* seulement avec un taux de 81.8% et 18.1%, respectivement (**Migahed et al., 2017**).

La dominance de genre *Aspergillus* et *Penicillium* dans les épices et les graines oléagineuses a été reportée dans plusieurs travaux (**Bokhari, 2007 ; Garcia et al., 2018 ; Makhoul et al., 2019 ; Matmoura et al., 2019 ; Alrudainy et Mshari 2020 ; Ramadan et al 2022**).

Les champignons appartenant aux genres *Aspergillus* et *Penicillium* sont fréquemment les principaux organismes présents dans les épices séchés, qu'elles soient entières ou moulues (**Garcia et al., 2018 ; Syamilah et al., 2022**). Ils sont les plus représentatifs des moisissures de stockage. La présence permanente des spores dans l'aire ambiante favorisent la contamination de matière alimentaire (**Jouany et al., 2006**). Le genre *Rhizopus* est également considéré un champignon qui attaque les cultures pendant le stockage (**Simay, 1994 ; Amza, 2018**).

Concernant les échantillons de lin, les résultats montrent que sont principalement colonisés par des levures avec un taux majoritaire de 74,36%. Plusieurs rapports ont signalés la présence de levures dans les épices (**Omafuvbe et Kolawole, 2004 ; Mandeel, 2005 ; A Abdel-Sater et al., 2008 ; Eltahan et Abd Elaziz, 2012**).

Le genre *Cladosporium* est la moisissure sont prédominantes avec un taux de 14,55%, tandis que les genres *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria* et *Rhizopus* représentent respectivement des taux de 6,55%, 3,09%, 1,09% et 0,36% (Figure 23). Les deux genres *Cladosporium* et *Alternaria* sont des champignons de champs qui attaquent les cultures sur le terrain. Après, l'infection de ces dernières, ils continueront à proliférer pendant le stockage dans les conditions favorables (**Syamilah et al., 2022**). Des résultats déférents ont été obtenus par

Sahay et al. (1990) en Inde, où le genre *Aspergillus* été prédominant avec un taux de plus de 40%, suivi par *Penicillium* (24%) et *Fusarium* (18%) tandis que, l'incidence d'autres champignons était seulement 16%.

L'analyse de la microflore associée aux graines de Lin par **Migahed et al (2017)** en Egypte a révélé la dominance de genres *Aspergillus* et *Penicillium* avec un taux de 80% et 15%, respectivement. Le taux de contamination par *Rhizopus* était de 5%.

Les zones tropicales et subtropicales de la planète sont favorables au développement des moisissures xérotolérantes, comme l'*Aspergillus* qui sont mieux adaptés à la chaleur (**Jouany et al., 2006 ; Pitt et Hocking, 2009**).

Les moisissures peuvent contaminer les épices tout au long de leur parcours, de la ferme jusqu'à le marché (**Syamilah et al., 2022**). La différence entre les deux échantillons peut être attribuée à la composition de substrat, au processus de préparation ou aux facteurs climatiques comme : la pluie, la température... (**Nadjet et al., 2016 ; Makhlouf et al., 2019**). La présence d'insectes dans les épices peut également favoriser la contamination fongique (**Nguyen, 2007 ; Syamilah et al., 2022**).

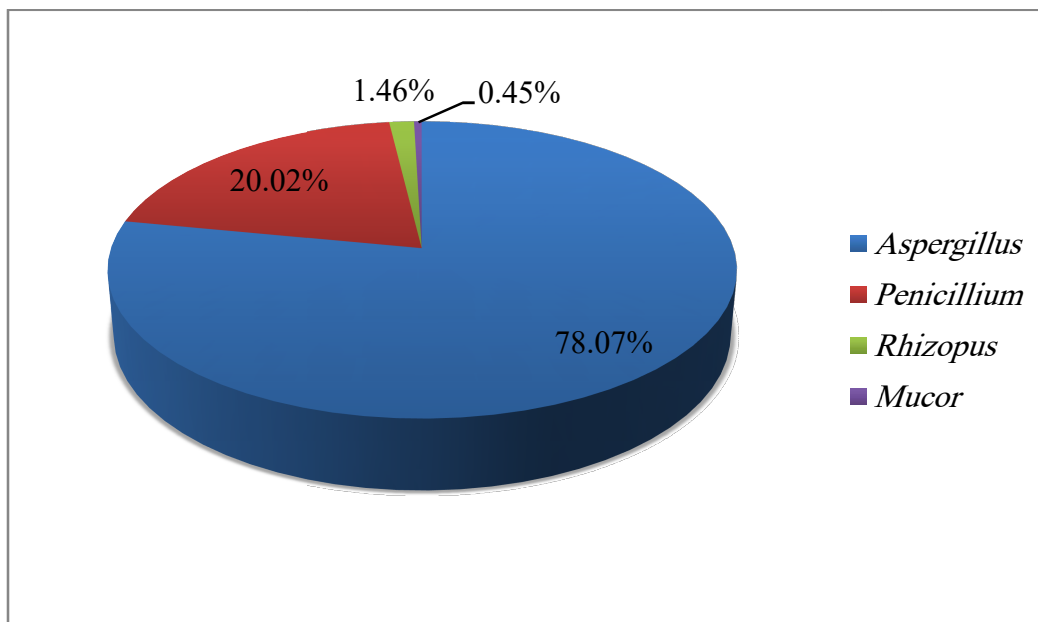


Figure 22 : Distribution des champignons dans les échantillons de nigelle.

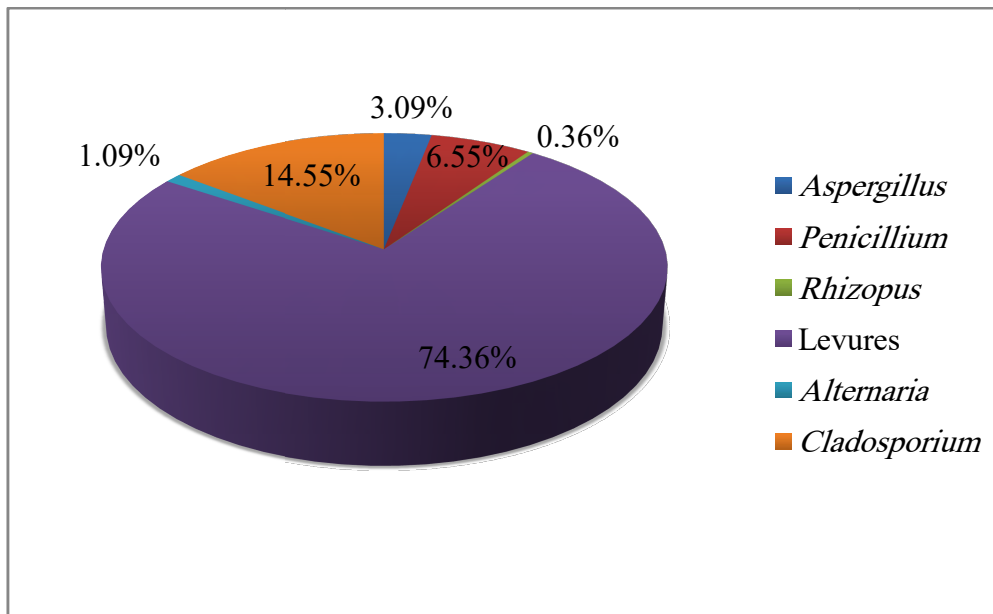


Figure 23 : Distribution des champignons dans les échantillons de lin.

1.4. Pourcentage de contamination (nombre d'échantillons) par les différents genres isolés :

Dans les échantillons de graines de cumin noir, *Aspergillus* est le genre le plus fréquemment retrouvé avec 90 % des échantillons contaminés. *Rhizopus* présente également une contamination élevée, avec 55 % des échantillons contaminés. *Penicillium* est présent dans 40% des échantillons, tandis que *Mucor* est détecté dans 10 % des échantillons (Figure 24). L'analyse des échantillons de noix de cajou en brésil par **Kujbida et al (2019)** a révélé que 50% des échantillons analysés ont été contaminés par le genre *Aspergillus*. Par ailleurs, 16.6 % des échantillons analysés ont été contaminés par *mycelia sterilia*. Les espèces de genre *Aspergillus* se trouvent principalement dans les régions à climats chauds car elles sont capables à se développer à des températures élevées et à un aw faible (**Pitt et Hocking, 2009**).

En ce qui concerne les échantillons de graines de LIN, Les levures sont les champignons le plus répandu dans les échantillons de graines de LIN, avec 62,5% des échantillons contaminés. *Penicillium* est détecté dans 37,5% des échantillons, *Aspergillus* est trouvé dans 25% des échantillons, suivi de *Rhizopus* et *Cladosporium* dans 12,5% des échantillons, chaque un (Figure 24). **Kujbida et al (2019)** ont signalé la dominance des échantillons de cacahuètes contaminés par des levures, représentant 35% du nombre total d'échantillons.

D'autre part l'analyse de cacahuète et de pistache par **Khodavaisy et al (2012)**, a révélé la dominance des échantillons contaminés par *Aspergillus sp* représenté par *A. flavus* (44.3% et 56.2%) et *A. niger* (1.4% et 12.5%), suivis par des échantillons contaminé par *Penicillium* (8.6% et 11.2%), *Fusarium* (5.7% et 2.5%), et les levures (4.3% et 11.2%), respectivement.

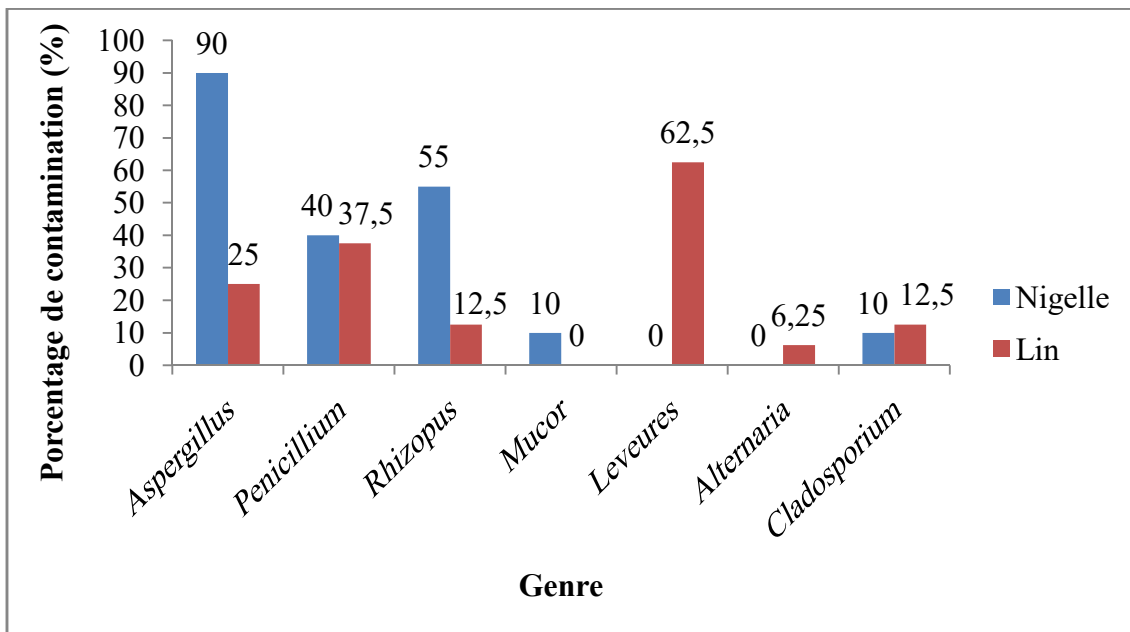


Figure 24 : Pourcentage de contamination (nombre d'échantillons) par les différents genres isolés.

1.5. Contamination (nombre d'échantillons) par les espèces Aspergillaires identifiées :

L'analyse des graines de nigelle a révélé la présence de différentes espèces d'*Aspergillus*, Les plus prédominantes sont des espèces de section *NIGRI*, retrouvées dans 90% des échantillons analysés. Les espèces de section *FLAVI* sont présentes dans 40% des échantillons. Les espèces *A. terreus* et *A. fumigatus* sont présentes avec des taux de 5% chacune (Figure 25).

Aziz et al (1998) ont rapporté la dominance de nombre d'échantillons contaminés par des espèces de la section *Nigri*, suivies des espèces de la section *Flavi* dans le cannelle, le cumin vert, le safran indien, le fenugrec, la fleur de fenouil, et la cardamome vert et ce qui concerne les résultats de l'analyse des échantillons de nigelle dans cette étude, *Aspergillus flavus* était présent dans 100% des échantillons, suivi par *Aspergillus parasiticus* (86%), *Aspergillus ochraceus* (71%), *Aspergillus niger* (57%), *Aspergillus oryzae* (43%), *Aspergillus terreus* (29%) et *Aspergillus tamarisii* (14%).

Des résultats déférents à celles obtenus par nous ont été observés par **Elvvakil et Ghoneem (1999)**, l'analyse des échantillons de nigelle a révélé la contamination de 93.31% des échantillons par des espèces de la section *Flavi*, (*Aspergillus flavus* et *Aspergillus tamarii*). *Aspergillus niger* était également détecté dans 36% des échantillons. De plus, la contamination par *Aspergillus carneus* et *Aspergillus fumigatus* était de 20.45%. D'autre part, *Aspergillus clavatus* était détecté dans 4.5% des échantillons.

L'analyse des graines de lin a révélé la présence de différentes espèces d'*Aspergillus*. L'espèce la plus prédominante est *A. fumigatus*, retrouvée dans 16.6% des échantillons analysés. *A. FLAVI* sont présentes dans 12.5% des échantillons. Les espèces *A. tereus* et *A. NIGRI* sont présentes avec des taux de 6.25% chacune (Figure 25). Des résultats différents ont été obtenus par **Abdel-Gawad et Zohri (1993)**, dans les échantillons d'amandes, de noix de cajou, de châtaignes, de noisettes, de noix et de pistaches.

La présence de champignons peut varier d'une épice à l'autre en raison de la diversité des échantillons et des méthodes d'échantillonnage, ainsi que des différentes pratiques de traitement, de stockage et du lieu d'origine. En réalité, le traitement des épices a une incidence sur la quantité de champignons présente dans les échantillons. Les étapes de transformation telles que le séchage et le conditionnement des épices peuvent favoriser la croissance et la propagation des champignons si les conditions de traitement ne sont pas optimales (**Mandeeel, 2005**).

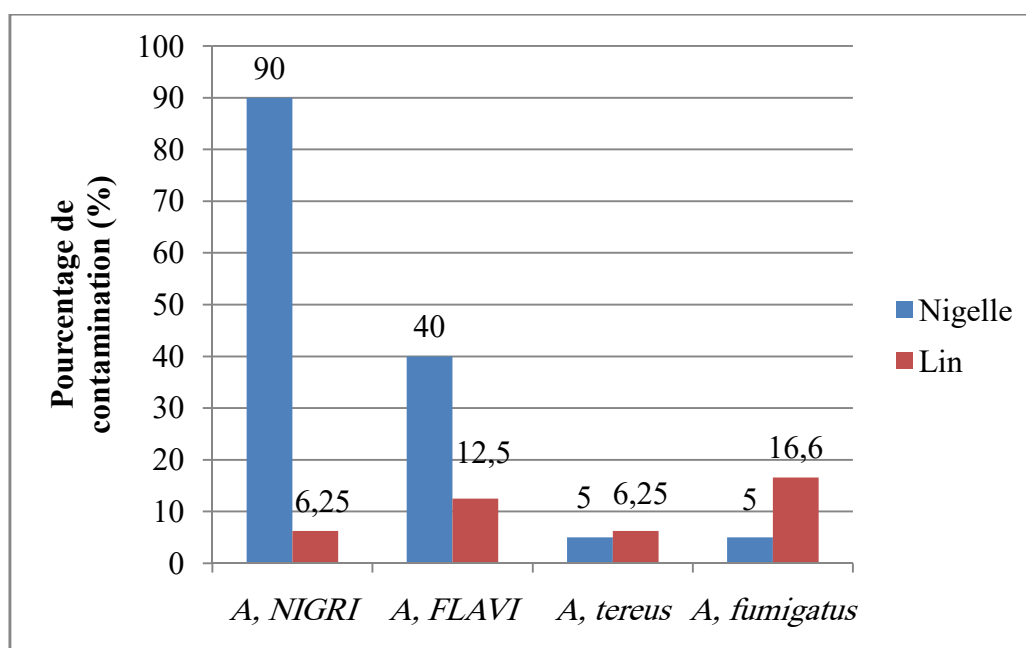


Figure 25: Contamination (nombre d'échantillons) par les espèces Aspergillaires identifiées.

1.6. Etude du pouvoir producteurs des aflatoxines par les isolats d'*Aspergillus flavus* :

Nous avons étudiés le pouvoir producteur des AFs de 11 souches d'*Aspergillus flavus*. Le criblage des isolats aflatoxinogènes est basé sur la mise en évidence d'une fluorescence bleue ou vert sous l'UV à 365nm sur milieu CAM. Les résultats ont été révélé 06 ayant présenté une fluorescence bleue sur la reverse de la boite, ce qui représente 54.5% de l'ensemble des échantillons (Figure 26). En revanche, les 5 autres isolats (45.4%) n'ont pas montré de fluorescence bleue sous l'UV. Des résultats déférentes on été obtenus par autres études. En Algérie, **Azzoune et al (2016)** a étudié le pouvoir producteur des AFs par des souches d'*Aspergillus flavus* isolées à partir de l'anis, le poivre noir, le carvi, la cannelle, le gingembre, le poivre rouge, le safran, le cumin et le poivron doux. Toutes les souches d'*Aspergillus flavus* ont montrées fluorescence bleue sur milieu CAM.

L'étude de pouvoir producteur des AFs par 6 souches d'*Aspergillus flavus* isolées à partir des noix tigrées et des arachides montre 4 des 6 souches d'*Aspergillus flavus* produisaient une fluorescence bleue lorsqu'elles étaient exposées à la lumière UV, ce qui indique la présence d'aflatoxine. La présence de production d'aflatoxine dans, les noix tigrées et les arachides était respectivement de 50 % et 100 % (**TANKO et al., 2022**).

La synthèse des mycotoxines par les champignons est le résultat d'une interaction entre les caractéristiques génétiques de la souche et les conditions environnementales dans lesquelles elle se trouve (**Blumenthal, 2004**). Toutes les souches d'espèces réputées toxigènes n'ont pas nécessairement la capacité de produire les mycotoxine. Cela signifie que certaines souches ont une forte capacité de production de toxines, tandis que d'autres ont des niveaux de production de toxines plus faibles ou sont non-toxigènes (**Pfohl-Leszkowicz et al., 2002**).

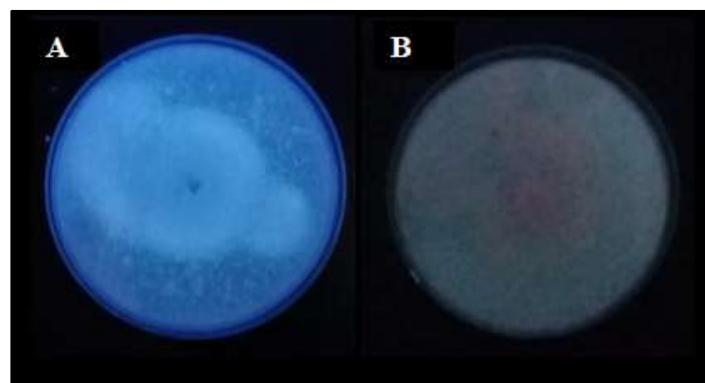


Figure 26 : Aspect des isolats d'*Aspergillus flavus* sous U.V (365nm) :

A) isolat producteur d'AFs B, B) isolat non producteur d'AFs.

1.7. Etude de pouvoir producteur des sclérotés :

Dans l'étude menée sur onze isolats d'*Aspergillus flavus* cultivés sur milieu CYA afin d'étudier leur capacité de production de sclérotés, aucun des isolats n'a présenté de production de sclérotés (Figure 27). Notre résultats ont déférents a ceux obtenus par **Nurtjahja et al (2019)**, Un total de 50 souches d'A. flavus ont été isolées à partir des dix épices étudiées, et toutes les souches ont produit de gros sclérotés (L). L'étude portée sur un total de 53 isouches d'*Aspergillus flavus* isolées de déférents échantillons d'amande par **Matmoura et al (2019)**, a révélé 50 isolats (82%) qui ne produisent pas de sclérotés, un seul isolat qui produit les sclérotés de type « S », et 2 isolats qui produisent les sclérotés de type « L ».

En tant qu'organismes non mobiles, les champignons doivent faire face à des conditions défavorables telles que l'épuisement des nutriments et les changements des conditions abiotiques. Pour survivre à ces périodes difficiles, un mycélium fongique peut se différencier en formant des structures de survie spécialisées appelées sclérotés. Les sclérotés permettent aux champignons de résister et de survivre à des conditions défavorables en ralentissant leur métabolisme et en fournissant une protection supplémentaire (**Wyatt, 2013 ; Watanabe, 2021**).

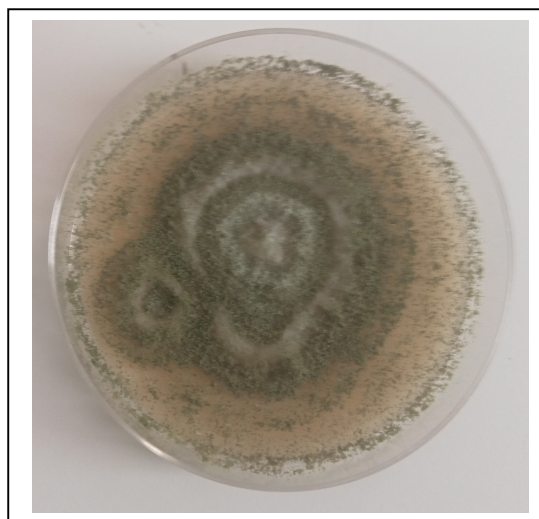


Figure 27 : Aspects d'un isolat d'*Aspergillus flavus* après 15 jours d'incubation sur milieu CYA, ne montrant aucune production de sclérotés.

Conclusion et perspectives

Au cours de notre travail, On a étudié la mycobiota (flore fongique) associés aux graines de nigelle et de lin et d'évaluer la capacité de produire les Aflatoxines et les sclérotés par les isolats d'*Aspergillus flavus* isolées.

L'analyse de la mycoflore a révélé les présences de plusieurs genres fongiques dont les plus dominants dans les graines de cumin noires sont *Aspergillus* et *Penicillium* avec des taux de 78.07% et 20.02% respectivement. Tandis que les champignons les plus dominants dans les graines de lin sont les levures et le genre *Cladosporium* avec des taux de 74,36% et 14.55% respectivement.

Concernant le pourcentage de contamination (nombre d'échantillons) par les différents genres isolés, *Aspergillus* était le genre le plus fréquemment retrouvé dans les échantillons de graines de cumin noir, avec 90 % des échantillons contaminés. *Rhizopus* présentait également une contamination élevée, avec 55 % des échantillons contaminés. Les levures étaient les champignons les plus répandus dans les échantillons de graines de lin, avec 62,5 % des échantillons contaminés. *Penicillium* était détecté dans 37,5 % des échantillons.

L'analyse des graines de nigelle a révélé la présence de différentes espèces d'*Aspergillus*, Les plus prédominantes sont des espèces de section *NIGRI*, retrouvées dans 90% des échantillons analysés. L'espèce la plus prédominante dans le lin était *A. fumigatus*, retrouvée dans 16.6% des échantillons analysés.

L'étude de pouvoir aflatoxinogène sur milieu CAM a révélé un taux de production 54.5%. D'autre part, aucun isolat n'a présenté de production de sclérotés.

A l'issue de ce travail et à afin d'élucider certains points restés peu claires, il apparait nécessaire en perspective, d'effectuer d'autre étude approfondie qui résumes les point suivant :

- L'utilisation de techniques de séquençage de l'ADN pour identifier les espèces fongiques et évaluer leur diversité.
- Étude des facteurs environnementaux et des conditions de stockage qui favorisent la croissance fongique et la production de toxines dans les graines de nigelle et de lin.

- Évaluation de l'efficacité de différentes méthodes de prévention et de lutte contre la contamination fongique, telles que le traitement des graines, les méthodes de stockage et les agents antifongiques naturels.

Références bibliographiques

A ABDEL-SATER, Mohamed, H AL-ZUBEIRY, Abdul-Rahman, A AL-SHARJABI, Fahd, *et al.* MYCOFLORA AND AFLATOXINS STATUS OF SOME SPICES AND HERBS COMMONLY CONSUMED IN TAIZ GOVERNORATE, REPUBLIC OF YEMEN. *Assiut Journal of Agricultural Sciences*, 2008, vol. 39, no 4, p. 107-125.

ABBAS, Hamed K., ZABLOTOWICZ, Robert M., BRUNS, H. Arnold, *et al.* Biocontrol of aflatoxin in corn by inoculation with non-aflatoxigenic *Aspergillus flavus* isolates. *Biocontrol Science and Technology*, 2006, vol. 16, no 5, p. 437-449.

ABDEL-GAWAD, Khayria M. et ZOHRI, A. A. Fungal flora and mycotoxins of six kinds of nut seeds for human consumption in Saudi Arabia. *Mycopathologia*, 1993, vol. 124, p. 55-64.

ADHIKARI, Manish, NEGI, Bhawana, KAUSHIK, Neha, *et al.* T-2 mycotoxin: toxicological effects and decontamination strategies. *Oncotarget*, 2017, vol. 8, no 20, p. 33933.

AGENCE FRANÇAISE DE SÉCURITÉ SANITAIRE DES ALIMENTS. *Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale: rapport synthétique: décembre 2006.* AFSSA, 2007.

AHMED, Adel F., SHEHATA, Abeer M., et ELHAFEZ, Zeinab A. Abd. Effect of a Natural Growth Stimulant (Ascobein) on Growth and Yield of Seeds and Oil of *Nigella sativa* Plants. *European Journal of Medicinal Plants*, 2022, vol. 33, no 11, p. 13-22.

ALRUDAINY, Alaa M. et MSHARI, Ahmed. Isolation and identification of fungi from some nuts products. *Plant Archives*, 2020, vol. 20, no 1, p. 274-276.

AMEZQUETA, Susana, SCHORR-GALINDO, S., MURILLO-ARBIZU, M., *et al.* OTA-producing fungi in foodstuffs: A review. *Food Control*, 2012, vol. 26, no 2, p. 259-268.

AMZA, Jabir. Seed borne fungi; food spoilage, negative impact and their management: A review. *Seed*, 2018, vol. 81, p. 70-79.

APPLEGATE, Kenneth L. et CHIPLEY, John R. Ochratoxins. *Advances in applied microbiology*, 1973, vol. 16, p. 97-109.

AWUCHI, Chinaza Godswill, ONDARI, Erick Nyakundi, ESEOGHENE, Ifie Josiah, *et al.* Fungal growth and mycotoxins production: Types, toxicities, control strategies, and detoxification. *Fungal reproduction and growth*, 2021, vol. 100207.

AZIZ, Nagy Halim, YOUSSEF, Youssef A., EL-FOULY, Moheie Z., *et al.* Contamination of some common medicinal plant samples and spices by fungi and their mycotoxins. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 1998, vol. 39.

AZZOUNE, N., MOKRANE, S., RIBA, A., *et al.* Contamination of common spices by aflatoxigenic fungi and aflatoxin B1 in Algeria. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 2016, vol. 8, no 1, p. 137-144.

BADOLE, S. L., ZANWAR, A. A., *et* BODHANKAR, S. L. Antihyperglycemic potential of secoisolaricinol diglucoside. *Bioactive Food as Dietary Interventions for Diabetes: Bioactive Foods in Chronic Disease States*, 2012, p. 53.

BAHADORIAN, Amirmahdi, SADRAMELI, Seyed Mojtaba, PAHLAVANZADEH, Hassan, *et al.* Optimization study of linseed biodiesel production via in-situ transesterification and slow pyrolysis of obtained linseed residue. *Renewable Energy*, 2023, vol. 203, p. 10-19.

BAKIRDERE, Sezgin, BORA, Selin, BAKIRDERE, E. Gülhan, *et al.* Aflatoxin species: their health effects and determination methods in different foodstuffs. *Central European journal of chemistry*, 2012, vol. 10, p. 675-685.

BAYMAN, Paul *et* BAKER, James L. Ochratoxins: a global perspective. 2006.

BELMEHDI SARA, BEDDAR Ghania. *Étude des moisissures productrices des mycotoxines isolée à partir des grains de blé dur*. 2019. Thèse de doctorat.

BELYAGOUBI, L. Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales. *Mémoire de Magister, département de biologie, faculté de sciences, université Aboubekr Belkaid, Tlemcen, Algérie*, 2006.

BENNETT, Scott E. Bakerand Joan W. An overview of the genus *Aspergillus*. *The Aspergilli*, 2007, p. 23-34.

BHAT, Rajeev, RAI, Ravishankar V., *et* KARIM, Abd A. Mycotoxins in food and feed: present status and future concerns. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 2010, vol. 9, no 1, p. 57-81.

BINDSCHEDLER, Saskia, CAILLEAU, Guillaume, *et* VERRECCHIA, Eric. Role of fungi in the biomineralization of calcite. *Minerals*, 2016, vol. 6, no 2, p. 41.

BLAIZE, Marion, NORMAND, Anne-Cécile, FEKKAR, Arnaud, *et al.* Identification des moisissures au laboratoire de routine hospitalière. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2021, vol. 2021, no 529, p. 58-65.

BLUMENTHAL, Cynthia Z. Production of toxic metabolites in *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, and *Trichoderma reesei*: justification of mycotoxin testing in food grade enzyme preparations derived from the three fungi. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2004, vol. 39, no 2, p. 214-228.

BOIRON, Patrick et PÉRILLEUX, Eric. *Organisation et biologie des champignons*. Nathan, 1996.

BOKHARI, Fardos M. Spices mycobiota and mycotoxins available in Saudi Arabia and their abilities to inhibit growth of some toxigenic fungi. *Mycobiology*, 2007, vol. 35, no 2, p. 47-53.

BOTTON, Bernard, A., BRETON, et FÈVRE, Michel. *Moisissures utiles et nuisibles: importance industrielle*. Paris : Masson, 1990.

BOUDIH, Sarah. *Identification des moisissures et de leurs métabolites secondaires colonisant des supports papiers: évaluation de la toxicité sur des cellules épithéliales respiratoires in vitro*. 2011. Thèse de doctorat. Université Paris-Est.

BOURAS, Noureddine, KIM, Yong Min, et STRELKOV, Stephen E. Influence of water activity and temperature on growth and mycotoxin production by isolates of *Pyrenophora tritici-repentis* from wheat. *International journal of food microbiology*, 2009, vol. 131, no 2-3, p. 251-255.

BULLERMAN, Lloyd B., SCHROEDER, Lisa L., et PARK, Kun-Young. Formation and control of mycotoxins in food. *Journal of Food Protection*, 1984, vol. 47, no 8, p. 637-646.

CAHAGNIER, B., JACOBSEN, E. E., et FLEURAT-LESSARD, F. écophysiologie de marqueurs biochimiques de croissance fongique et prévision des durées de. *Orge de Brasserie*, 2005, vol. 101, p. 121.

ÇAKIR, Bilal et GÜLSEREN, İbrahim. Identification of novel proteins from black cumin seed meals based on 2D gel electrophoresis and MALDI-TOF/TOF-MS analysis. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2019, vol. 74, no 3, p. 414-420.

CASTEGNARO, M. et PFOHL-LESZKOWICZ, A. Les mycotoxines: contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine. *La sécurité alimentaire du consommateur*, 2002, vol. 2, p. 127-79.

CHABASSE, Dominique, BOUCHARA, Jean-Philippe, DE GENTILE, L., *et al.* Les moisissures d'intérêt médical. *Cahier de formation*, 2002, no 25.

COPE, Rhian B. Trichothecenes. In : *Veterinary Toxicology*. Academic Press, 2018. p. 1043-1053.

DAGENAIS, Taylor RT, CHUNG, DaWoon, GILES, Steven S., *et al.* Defects in conidiophore development and conidium-macrophage interactions in a dioxygenase mutant of *Aspergillus fumigatus*. *Infection and immunity*, 2008, vol. 76, no 7, p. 3214-3220.

DAVET, Pierre. *Vie microbienne du sol et production végétale*. Editions Quae, 1996.

DAVET, Pierre et ROUXEL, Francis. Détection et isolement des champignons du sol. *Détection et isolement des champignons du sol*, 1997, p. 1-208.

DAVIS, N. D., IYER, S. K., et DIENER, UL203916. Improved method of screening for aflatoxin with a coconut agar medium. *Applied and environmental microbiology*, 1987, vol. 53, no 7, p. 1593-1595.

DENDOUGA, Wassila. *Impact des facteurs écologiques sur les moisissures antagonistes et productrices des enzymes hydrolytiques*. 2017. Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas.

DERACHE, Roger. Toxicologie et sécurité des aliments. 1986.

DIJKSTERHUIS, Jan et SAMSON, Robert A. (ed.). *Food mycology: a multifaceted approach to fungi and food*. CRC Press, 2007.

EL KHOURY, André. *Champignons Mycotoxinogènes et Ochratoxine A (OTA) et Aflatoxine B1 (AFB1) dans les vignobles libanais: Occurrence et Origine*. 2007. Thèse de doctorat.

EL KHOURY, André et ATOUI, Ali. Ochratoxin A: General overview and actual molecular status. *Toxins*, 2010, vol. 2, no 4, p. 461-493.

ELTAHAN, F. H., SHETAIA, Y. M., et ABD ELAZIZ, M. F. FUNGAL PROFILE OF SOME SELECTED EGYPTIAN MEDICINAL PLANTS AND SPICES AND

ESTIMATION OF MYCOTOXIN PRODUCTION. *Egyptian Journal of Agricultural Sciences*, 2012, vol. 63, no 3, p. 333-344.

ELVVAKIL, M. A. et GHONEEM, K. M. Detection and location of seed-borne fungi of black cumin and their transmission in seedlings. 1999. N° d'échantillon : FLAVI (flavus/tamarii), niger, carneus + fumigatus, clavateus.

FAY, Michael F. et CHRISTENHUSZ, Maarten JM. Ranunculales-buttercups, poppies and their relatives. *Curtis's Botanical Magazine*, 2012, vol. 29, no 3, p. 222-234.

GAMS, Walter, CHRISTENSEN, Martha, ONIONS, Agnes H., *et al.* Infrageneric taxa of *Aspergillus*. *Advances in Penicillium and Aspergillus systematics*, 1986, p. 55-62.

GARCIA, Marcelo Valle, PARUSSOLO, Gilson, MORO, Camila Brombilla, *et al.* Fungi in spices and mycotoxigenic potential of some *Aspergilli* isolated. *Food microbiology*, 2018, vol. 73, p. 93-98.

GAUTHIER, Alban. Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé. *Sciences pharmaceutiques. dumas-01315198*, 2016.

GIBSON, Angela M., BARANYI, Jozsef, PITT, John I., *et al.* Predicting fungal growth: the effect of water activity on *Aspergillus flavus* and related species. *International journal of food microbiology*, 1994, vol. 23, no 3-4, p. 419-431.

GLIMN-LACY, Janice et KAUFMAN, Peter B. *Botany illustrated: introduction to plants, major groups, flowering plant families*. New York : Springer, 2006.

GOCK, Melissa A., HOCKING, Ailsa D., PITT, John I., *et al.* Influence of temperature, water activity and pH on growth of some xerophilic fungi. *International Journal of Food Microbiology*, 2003, vol. 81, no 1, p. 11-19.

GODET, Marie et MUNAUT, Françoise. Molecular strategy for identification in *Aspergillus* section Flavi. *FEMS Microbiology Letters*, 2010, vol. 304, no 2, p. 157-168.

GUIRAUD, J. P. *Microbiologie Alimentaire*. Dunod. Paris. France, 1998.

HADJADJ, Naima. *Optimisation des paramètres influençant le taux d'extraction de l'huile des graines de nigelle (Nigella Sativa L.) par pressage*. 2008. Thèse de doctorat. INA.

HALAMSKI, Adam Tadeusz. Armen Takhtajan, 2009—Flowering Plants. *Publications de la Société Linnéenne de Lyon*, 2010, vol. 79, no 5, p. 179-182.

HADJADJ, Naima. *Nigella sativa: Optimisation de l'extraction d'huile par pressage et étude des fractions lipidique et phénolique*. 2015. Thèse de doctorat. ENSA.

HAQUE, Mahin, SINGH, Renu, NADEEM, Ayasha, *et al.* *Nigella sativa: A promise for industrial and agricultural economic growth*. In : *Black Seeds (Nigella Sativa)*. Elsevier, 2022. p. 439-460.

HEBIDI, Medhi. Contribution à l'étude de la graine de nigelle ou cumin noir *Nigella sativa* L. 2019.

HUANG, Baifen, HAN, Zheng, CAI, Zengxuan, *et al.* Simultaneous determination of aflatoxins B1, B2, G1, G2, M1 and M2 in peanuts and their derivative products by ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Analytica chimica acta*, 2010, vol. 662, no 1, p. 62-68.

HOUBRAKEN, J., KOCSUBÉ, Sándor, VISAGIE, Cobus M., *et al.* Classification of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and related genera (Eurotiales): An overview of families, genera, subgenera, sections, series and species. *Studies in mycology*, 2020, vol. 95, p. 5-169.

JIBAT, Merga, GETACHEW, Wakjira, KIFELEW, Habetewold, *et al.* Survey and Identification of Major Diseases of Black Cumin (*Nigella sativa* L.) in Ethiopia. *Results of Plant Protection Research*, 2018.

JOHNSSON, Pernilla. *Bioactive phytochemicals in flaxseed*. 2009.

JOUANY, Jean-Pierre, MORGAVI, Diego P., et BOUDRA, Hamid. Le risque mycotoxique dans la chaîne alimentaire en France. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 2006, vol. 41, no 3, p. 151-158.

ISLAM, Mohammad Retaful, TUDRYN, Gregory, BUCINELL, R., *et al.* Morphology and mechanics of fungal mycelium. *Scientific reports*, 2017, vol. 7, no 1, p. 13070.

JOHRI, Brij M., AMBEGAOKAR, Kunda B., et SRIVASTAVA, Prem S. *Comparative embryology of angiosperms vol. 1/2*. Springer Science & Business Media, 2013.

ISMAIL, Mady A. Deterioration and spoilage of peanuts and desiccated coconuts from two sub-Saharan tropical East African countries due to the associated mycobiota and their degradative enzymes. *Mycopathologia*, 2001, vol. 150, p. 67-84.

- KHALEDI, Nima et HASSANI, Farshid. Effect of seed-borne Fusarium species on constituents of essential oils from seeds of black cumin populations. *Journal of Plant Protection Research*, 2021, p. 229-242-229-242.
- KHODAVAISY, Sadegh, MALEKI, Afshin, HOSSAINZADE, Bayan, *et al.* Occurrence of fungal contamination in pistachio and peanut samples from retail shops in Sanandaj province, Iran. *African Journal of Microbiology Research*, 2012, vol. 6, no 39, p. 6781-6784
- KIRALAN, Mustafa, KIRALAN, Sündüz Sezer, OZKAN, Gulcan, *et al.* Composition and functionality of Nigella sativa fixed oil. *Black Cumin (Nigella sativa) Seeds: Chemistry, Technology, Functionality, and Applications*, 2021, p. 319-333.
- KOUR, Jasmeet et GANI, Adil. Nigella sativa seed cake: nutraceutical significance and applications in the food and cosmetic industry. *Black cumin (Nigella sativa) seeds: Chemistry, Technology, Functionality, and Applications*, 2021, p. 223-229.
- KUJBIDA, Paula, MAIA, Patrícia Penido, ARAÚJO, Ariadne Naama de, *et al.* Risk assessment of the occurrence of aflatoxin and fungi in peanuts and cashew nuts. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2019, vol. 55.
- KUMARI, Chitra et SINGH, Shyam Govind. MYCOFLORA OF SPICES: A REVIEW. *Plant Archives*, 2021, vol. 21, no 2, p. 99-102.
- LE BARS, J. et LE BARS, P. Les moisissures des denrées alimentaires et leurs séquences. In : *Conférence de la «Section Midi-Pyrénées»*. Toulouse. 1987
- LECLERC, Henri, GAILLARD, Jean-Louis, et SIMONET, Michel. *Microbiologie générale: la bactérie et le monde bactérien*. Doin, 1995.
- MAHATO, Dipendra Kumar, PANDHI, Shikha, KAMLE, Madhu, *et al.* Trichothecenes in food and feed: Occurrence, impact on human health and their detection and management strategies. *Toxicon*, 2022.
- MAHROUCHE KHAOULA, NEKHILI Siham. *Evaluation de l'activité de l'huile essentielle d'Azadirachta indica vis-à-vis d'Aspergillus flavus des noix du Juglans regia*. 2020. Thèse de doctorat.

MAKHLOUF, Joya, CARVAJAL-CAMPOS, Amaranta, QUERIN, Arlette, *et al.* Morphologic, molecular and metabolic characterization of *Aspergillus* section Flavi in spices marketed in Lebanon. *Scientific reports*, 2019, vol. 9, no 1, p. 5263.

MALIR, Frantisek, OSTRY, Vladimir, PFOHL-LESZKOWICZ, Annie, *et al.* Ochratoxin A: 50 years of research. *Toxins*, 2016, vol. 8, no 7, p. 191.

MAMGAIN, Anuj, ROYCHOWDHURY, Rajib, et TAH, Jagatpati. *Alternaria* pathogenicity and its strategic controls. *Research Journal of Biology*, 2013, vol. 1, p. 1-9.

MANDEEL, Qaher A. Fungal contamination of some imported spices. *Mycopathologia*, 2005, vol. 159, p. 291-298.

MATMOURA, A., BOUTI, K., BOURAS, N., *et al.* RECHERCHE DES POPULATIONS D'ASPERGILLUS SECTION FLAVI AFLATOXINOGENES DANS LES AMANDES COMMERCIALISÉES DANS TROIS RÉGIONS ALGÉRIENNES. *African Review of Science, Technology and Development*, 2019, vol. 4, no 01, p. 1-13.

MIGAHED, Fatma F., ABDEL-GWAD, Manar M., et MOHAMED, Sherif R. Aflatoxigenic fungi associated with some medicinal plants. *Annual Research & Review in Biology*, 2017, p. 1-20.

MOHAMED, Al-Sman K., ABO-EL-YOUSR, A. M., AMAL, Eraky, *et al.* Isolation, identification and biomanagement of root rot of black cumin (*Nigella sativa*) using selected bacterial antagonists. *International Journal of Phytopathology*, 2017, vol. 6, no 3, p. 47-56.

MUEED, Abdul, SHIBLI, Sahar, KORMA, Sameh A., *et al.* Flaxseed bioactive compounds: Chemical composition, functional properties, food applications and health benefits-related gut microbes. *Foods*, 2022, vol. 11, no 20, p. 3307

MUIR, Alister D. et WESTCOTT, Neil D. (ed.). *Flax: the genus Linum*. CRC press, 2003.

MUKHTAR, Hamid, MUMTAZ, Muhammad Waseem, TAUQEER, Tooba, *et al.* Composition of *Nigella sativa* seeds. *Black cumin (Nigella sativa) seeds: Chemistry, Technology, Functionality, and Applications*, 2021, p. 45-57.

MANDEEL, Qaher A. Fungal contamination of some imported spices. *Mycopathologia*, 2005, vol. 159, p. 291-298.

MANOHARAN, N., JAYAMURALI, D., PARASURAMAN, R., *et al.* Phytochemical composition, therapeutical and pharmacological potential of *Nigella sativa*: a review. *Tradit Med Res*, 2021, vol. 6, no 4, p. 32.

MATMOURA, A., BOUTI, K., BOURAS, N., *et al.* RECHERCHE DES POPULATIONS D'ASPERGILLUS SECTION FLAVI AFLATOXINOGENES DANS LES AMANDES COMMERCIALISÉES DANS TROIS RÉGIONS ALGÉRIENNES. *African Review of Science, Technology and Development*, 2019, vol. 4, no 01, p. 1-13.

MURPHY, Patricia A., HENDRICH, Suzanne, LANDGREN, Cindy, *et al.* Food mycotoxins: an update. *Journal of food science*, 2006, vol. 71, no 5, p. R51.

NADA, KHERBOUCHE. *Extraction, caractérisation physico-chimique et l'étude de l'effet antibactérienne d'extrait d'une plante médicinale Linum usitatissimum L.(zeriaat ealketane) utilisée au traitement des troubles digestifs dans la wilaya de mila.* 2022. Thèse de doctorat. university center of abdalhafid boussouf-MILA.

NADJET, GUEZLANE-TEBIBEL, NOUREDDINE, BOURAS, et DIDI, OULD EL HADJ Mohamed. Les mycotoxines: un danger de santé public. *Algerian Journal of Arid Environment "AJAE"*, 2016, vol. 6, no 1.

NERGIZ, Cevdet et ÖTLEŞ, Semih. Chemical composition of *Nigella sativa* L. seeds. *Food chemistry*, 1993, vol. 48, no 3, p. 259-261

NGUYEN, Minh Tri. *Identification des espèces de moisissures, potentiellement productrices de mycotoxines dans le riz commercialisé dans cinq provinces de la région centrale du Vietnam: étude des conditions pouvant réduire la production des mycotoxines.* 2007. Thèse de doctorat.

NGUYEN VAN LONG, Nicolas. *Impact de facteurs abiotiques sur la physiologie des moisissures d'intérêt agro-alimentaire.* 2017. Thèse de doctorat. Brest.

NOSEVICH, M. A., GANUSEVICH, F. F., et SPIRICHEVA, A. P. Effect of presowing treatment of seeds with Flavobacterin on development of diseases, pests and weeds in oil flax

crops. In : *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. IOP Publishing, 2020. p. 012094.

NICHTERLEIN, Karin et HORN, Renate. Haploids in the Improvement of Linaceae and Asteraceae. *Haploids in Crop Improvement II*, 2005, p. 277-294.

NICKLIN, Jane, GRAEME-COOK, Kate, et KILLINGTON, Richard. *L'essentiel en microbiologie*. Berti Editions, 2000.

NOVAS, M. Victoria et CABRAL, Daniel. Association of mycotoxin and sclerotia production with compatibility groups in *Aspergillus flavus* from peanut in Argentina. *Plant Disease*, 2002, vol. 86, no 3, p. 215-219.

NURTJAHJA, Kiki, ZUHRA, Cut Fatimah, SEMBIRING, Helmina, *et al.* Fungal contamination spices from Indonesia with emphasis on *Aspergillus flavus*. *Czech Journal of Food Sciences*, 2019, vol. 37, no 5, p. 338-344.

OGUNLEYE, A. O. et OLAIYA, Grace A. Isolation, Identification and Mycotoxin Production of Some Mycoflora of Dried Stockfish (*Gadus morhua*). *Academic Journal of Science*, 2015, vol. 4, no 1, p. 345-363.

OKUNGBOWA, F. I. et SHITTU, H. O. Fusarium wilts: An overview. *Environ. Res. J*, 2012, vol. 6, no 2, p. 83-102.

ÖLMEZ, Şevket, ÖREN, Emel, BAYRAKTAR, Harun, *et al.* First report of *Fusarium redolens* associated with root and crown rot on black cumin in Turkey. *Journal of Plant Pathology*, 2021, vol. 103, no 2, p. 747-748.

OMAFUVBE, B. O. et KOLAWOLE, D. O. Quality assurance of stored pepper (*Piper guineense*) using controlled processing methods. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2004, vol. 3, no 4, p. 244-249.

ÖZCAN, Mehmet Musa et DEĞERLI, Zeliha. Effect on human health and bioactive components of linseed. *Пищевая промышленность: наука и технологии*, 2019, vol. 12, no 3, p. 85-92.

PICKOVA, Darina, OSTRY, Vladimir, TOMAN, Jakub, *et al.* Aflatoxins: History, significant milestones, recent data on their toxicity and ways to mitigation. *Toxins*, 2021, vol. 13, no 6, p. 399.

PITT, John I., HOCKING, Ailsa Diane, *et al.* *Fungi and food spoilage*. New York : Springer, 2009.

PFOHL-LESZKOWICZ, A., PETKOVA-BOCHAROVA, T., CHERNOZEMSKY, I. N., *et al.* Balkan endemic nephropathy and associated urinary tract tumours: a review on aetiological causes and the potential role of mycotoxins. *Food additives & contaminants*, 2002, vol. 19, no 3, p. 282-302.

PROCTOR, D. L. *Techniques d'emmagasinage des grains: Evolution et tendances dans les pays en développement*. Food & Agriculture Org., 1995.

RAGHUWANSHI, V. P., AGRAWAL, R. S., *et* MANE, K. A. Flaxseed as a functional food: a review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2019, vol. 8, no 3, p. 352-354.

RAHMAN, Azad, AKBAR, Delwar, BHATTARAI, Surya, *et al.* Market analysis of kalonji. *CQ University Australia, Cooperative Research Centre for Developing Northern Australia (CRCNA)*, 2020.

RAMADAN, Eman A., RAMADAN, Nadeem A., *et* MOHAMMED, Amjad Abdul Hadi. AFLATOXIGENIC FUNGI IN NUTS AND DRIED FRUITS IN MOSUL AND DUHOK CITY. *Military Medical Science Letters/Vojenské Zdravotnické Listy*, 2022, vol. 91, no 3.

REBOUX, G. Mycotoxines: effets sur la santé et interactions avec d'autres composants organiques. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*, 2006, vol. 46, no 3, p. 208-212.

REDDY, Lalini *et* BHOOLA, Kanti. Ochratoxins—Food contaminants: Impact on human health. *Toxins*, 2010, vol. 2, no 4, p. 771-779.

REDOUANE-SALAH, S. Caractérisation mycologique des fourrages pour ruminants et recherche d'Aflatoxine M1 dans le lait cru de vache: Étude comparative aux laits pasteurisé et lyophilisé [Thesis, des Frères Mentouri-Constantine]. DOI10. 1007/s10661-015-4627-y. 2016.

ROCHE, Alain *et* GILOT, Sébastien. Climat et biocontamination. Études de cas d'archives. *In Situ. Revue des patrimoines*, 2012, no 19.

ROZALIYANI, Anna, SEDONO, Rudyanto, SJAM, Ridhawati, *et al.* Molecular typing and antifungal susceptibility study of *Aspergillus* spp. in intensive care unit (ICU) patients in

Indonesia. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 2021, vol. 15, no 07, p. 1014-1020.

SAHAY, S. S., PRASAD, T., et SINHA, K. K. Postharvest incidence of aflatoxins in *Linum usitatissimum* seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1990, vol. 53, no 2, p. 169-174.

SANEHI, Ram. Response of growth and yield linseed (*Linum usitatissimum* L.) as influenced in cropping system, irrigation and phosphorous. 2023

SCHUDA, Paul Francis. Aflatoxin chemistry and syntheses. In : *Syntheses of Natural Products*. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2005. p. 75-111.

SENANI, Nassima. *Etude du pouvoir antifongique (inhibition de croissance et de production d'aflatoxines) des composés et extraits polyphénoliques issus des olives et sous produits de l'olivier (feuilles et margines) variété chamlal sur deux souches, Aspergillus flavus et Aspergillus parasiticus*. 2010. Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri.

SIMAY, Endre I. Seed-borne fungi of flax (*Linum usitatissimum* L.). *Bulletin de Ressources Phytogénétiques Noticiario de Recursos Fitogenéticos*, 1994. STEWART, George Franklin, CHICHESTER, C. O., et GALLIVER, G. B. (ed.). *Food Science and Technology: A Series of Monographs*. Academic Press, 1965.

SINGH, JYOTI, SINGH, P. K., et SRIVASTAVA, R. L. Diseases of linseed (*Linum usitatissimum* L.) in India and their management-A Review. *THE INDIAN SOCIETY OF OILSEEDS RESEARCH*, p. 52.

STAVROPOULOS, Panteleimon, MAVROEIDIS, Antonios, PAPADOPOULOS, George, *et al.* On the path towards a “Greener” EU: A Mini review on Flax (*Linum usitatissimum* L.) as a Case Study. *Plants*, 2023, vol. 12, no 5, p. 1102.

SYAMILAH, N., NURUL AFIFAH, S., EFFARIZAH, M. E., *et al.* Mycotoxins and mycotoxigenic fungi in spices and mixed spices: a review. *Food Research*, 2022, vol. 6, no 4, p. 30-46.

TABUC, Cristina. *Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines*. 2007. Thèse de doctorat.

TANKO, Auwal Karimatu, HASSAN, Rabi Salisu, HASHIM, Sani, *et al.* Prevalence of Molds and Aflatoxin Producing *Aspergillus flavus* in Stored Cereal Grains and Legumes in

Zaria, Kaduna State, Nigeria. *OIRT Journal of Scientific Research*, 2022, vol. 2, no 6, p. 68-74.

ULRIKA, Ädel Druvefors. Yeast biocontrol of grain spoilage moulds: mode of action of *Pichia anomala*. *Acta Universitatis Agriculturae Sueciae. Agraria*, 2004, no 466.

VAN HOOREN, A. M. N. et NOOTEBOOM, H. P. Linaceae. *Flora Malesiana-Series 1, Spermatophyta*, 1984, vol. 10, no 1, p. 607-619.

VATANSEV, Husamettin, CIFTCI, Harun, OZKAYA, Ahmet, *et al.* Chemical composition of *Nigella sativa* L. seeds used as a medical aromatic plant from East Anatolia Region, Turkey. 2013.

VARGA, J., FRISVAD, Jens Christian, et SAMSON, RA3161756. Two new aflatoxin producing species, and an overview of *Aspergillus* section *Flavi*. *Studies in Mycology*, 2011, vol. 69, no 1, p. 57-80.

VERGHESE, Martha, BOATENG, Judith, et WALKER, Lloyd T. Flax seed (*linum usitatissimum*) fatty acids. In : *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*. Academic Press, 2011. p. 487-498.

VIJAYAKUMAR, R., SANDLE, T., et MANOHARAN^o, C. A review on fungal contamination in pharmaceutical products and phenotypic identification of contaminants by conventional. *European Journal of Parenteral & Pharmaceutical Sciences*, 2012, vol. 17, no 1, p. 4-18.

WAKO, Fikadu Lebeta. Black cumin (*Nigella sativa* L.) Production: A Mini Review. 2020.

WATANABE, Makiko (ed.). *Sclerotia Grains in Soils: A New Perspective from Pedosclerotiology*. Springer Nature, 2021.

WILLIAMSON-BENAVIDES, Bruce A. et DHINGRA, Amit. Understanding root rot disease in agricultural crops. *Horticulturae*, 2021, vol. 7, no 2, p. 33.

WILSON, Richard A., CALVO, Ana M., CHANG, Perng-Kuang, *et al.* Characterization of the *Aspergillus parasiticus* $\Delta 12$ -desaturase gene: a role for lipid metabolism in the *Aspergillus*–seed interaction. *Microbiology*, 2004, vol. 150, no 9, p. 2881-2888.

WU, Shufen, WANG, Xiaochan, QI, Wei, *et al.* Bioactive protein/peptides of flaxseed: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 2019, vol. 92, p. 184-193.

WURDACK, Kenneth J. et DAVIS, Charles C. Malpighiales phylogenetics: gaining ground on one of the most recalcitrant clades in the angiosperm tree of life. *American Journal of Botany*, 2009, vol. 96, no 8, p. 1551-1570.

WYATT, Timon T., WÖSTEN, Han AB, et DIJKSTERHUIS, Jan. Fungal spores for dispersion in space and time. *Advances in applied microbiology*, 2013, vol. 85, p. 43-91.

XU, Zhenghao et DENG, Meihua. *Identification and Control of Common Weeds: Volume 3*. Dordrecht : Springer Netherlands, 2017.

ZHENG, Yunliang, ZHANG, Qiao, et HU, Xingjiang. A comprehensive review of ethnopharmacological uses, phytochemistry, biological activities, and future prospects of *Nigella glandulifera*. *Medicinal Chemistry Research*, 2020, vol. 29, p. 1168-1186.

ZOHARY, Michael. The genus *Nigella* (Ranunculaceae)—a taxonomic revision. *Plant Systematics and Evolution*, 1983, vol. 142, p. 71-105.

ANNEXE I

Compositions des milieux de cultures pour 1 litre

- **Milieu PDA (Potato , Dextrose , Agar)**

Pomme de terre.....200 g

Glucose20 g

Agar15 g

Eau distillée1 L

- **Milieu CAM (Coconut Agar Medium)**

Etude de la production des mycotoxines (Aflatoxine ou Ochratoxine A)

Noix de coco.....100g

Agar15 g

Eau distillée1 L

- **Milieu CYA (Czapek, Yeast, Agar)**

Saccharose30 g

Extrait de levure5 g

Czapek concentré10 ml

K₂HPO₄1 g

Agar15 g

Eau distillée1000 ml

PH final= 6,2 ± 0,2

- **Czapek concentré**

NaNO₃30 g

KCl5 g

MgSO₄, 7H₂O5 g

Fe SO₄, 7H₂O0,1 g

Zn SO₄, 7H₂O0,1 g

Cu SO₄, 5 H₂O.....0,05 g

Eau distillée100 ml

Le pH final est de 6,7 ajusté avec une solution HCl2N.

- **Milieu MEA (Malt, Extract, Agar)**

Extrait de Malt30 g

Agar.....15 g

Eau distillée.....1000 m

ANNEXE II

Appareillage et produits chimiques

- **Appareillage**

Agitateurs magnétiques (VELP)

Autoclave (WiseClave)

Balance électronique (Scout Se)

Etuve (memmert)

Micropipettes

Microscope photonique (OPTIKA)

Agitateurs vortex (VELP)

L'ance de platine

- **Les solvants et produits chimiques**

Agar

Extrait de levure

Saccharose

Tween 80

Nitrate de sodium

Hydroxyde de potassium

Chlorure de potassium

Sulfate de magnésium heptahydraté

Sulfate de fer heptahydraté

Sulfate de zinc heptahydraté

Sulfate de cuivre pentahydraté

Résumé

Les graines de *Nigella sativa* et de *Linum usitatissimum* ont de multiples applications dans les domaines de la médecine, de l'agriculture et de l'industrie alimentaire. Cependant, la présence des champignons dans ces graines peut avoir des conséquences sur leur qualité et leur sécurité alimentaire.

L'objectif de notre travail est d'évaluer la présence et la diversité des contaminants fongiques associés aux graines de lin et de nigelle commercialisées dans la région de Bouira.

L'isolement des moisissures a été réalisé selon la méthode de suspension dilution. Les résultats du dénombrement ont montrés une contamination plus élevée dans les graines de nigelle par rapport aux graines de lin, avec une charge totale de 3931.5 UFC/g. L'identification des isolats fongiques a été basée sur l'observation des caractères macroscopiques et microscopiques. Le genre *Aspergillus* était le plus dominant dans les graines de nigelle, avec un taux de 78,07% présent dans 90% des échantillons. Les levures ont été prédominantes dans les graines de lin avec un taux de 74.36% retrouvé dans 62.5% des échantillons.

Ces résultats mettent en évidence l'importance d'un contrôle régulier de la contamination fongique au cours de la commercialisation de ces graines.

Mots clés : *Nigella sativa*, *Linum usitatissimum*, Contamination.

Abstract

The seeds of *Nigella sativa* and *Linum usitatissimum* have multiple applications in the fields of medicine, agriculture, and the food industry. However, the presence of fungi in these seeds can have consequences on their quality and food safety.

The objective of our work is to assess the presence and diversity of fungal contaminants associated with commercially available linseed and black cumin seeds Bouira.

Isolation of molds was performed using the dilution suspension method. The enumeration results showed higher contamination in black cumin seeds compared to linseed, with a total count of 3931.5 CFU/g. Identification of fungal isolates was based on macroscopic and microscopic observations. The genus *Aspergillus* was the most dominant in black cumin, with a rate of 78.07% present in 90% of the samples. Yeasts were predominant in linseed, with a rate of 74.36% found in 62.5% of the samples.

These results highlight the importance of regular monitoring of fungal contamination during the commercialization of these seeds.

Key words : *Nigella sativa*, *Linum usitatissimum*, Contamination.

ملخص

تستخدم بذور الحبة السوداء والكتان في مجالات عديدة مثل الطب والزراعة وصناعة الأغذية، مع ذلك، قد يكون وجود الفطريات في هذه البذور له تأثيرات على جودتها وسلامة الغذائية.

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم وجود وتنوع الملوثات الفطرية المرتبطة ببذور الكتان والحبة السوداء المتاحة تجاريًا في منطقة البويرة.

تمت عملية عزل العفن باستخدام طريقة التعليق والتخفيف. أظهرت نتائج العد على وسط PDA وجود تلوث أعلى في بذور الحبة السوداء مقارنة ببذور الكتان، حيث بلغت الحمولة الكلية 3931.5 و.ب.م/غ. تم تعريف العزلات الفطرية بناءً على الملاحظات المايكروسكوبية والميكروسكوبية. كان جنس *اسبارجيلوس* هو الأكثر سيطرة في بذور الحبة السوداء، حيث بلغت نسبته 78.07% متواجداً في 90% من العينات. في حين كانت الخمائر هي الأكثر سيطرة في بذور الكتان، حيث بلغت نسبة 74.36% متواجدة في 62.5% من العينات.

تسلط هذه النتائج الضوء على أهمية مراقبة تلوث الفطريات بانتظام أثناء تسويق هذه البذور.

الكلمات المفتاحية : حبة سوداء, كتان, تلوث.