

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de biotechnologie et agro-écologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme académique

Spécialité : Biotechnologie microbienne

Thème

**Test de l'activité antimicrobienne des acides gras du
champignon *Armillaria mellea*.**

Réalisé par :

Benarbia Rokia
Yala Inesse

Date de soutenance :

Septembre 2023

Devant le jury composé de

Nom	Grade/Lieu	Qualité
H. BENKORTEBY	M.A.A UB1	Présidente
F. BENSALD	M.A.A UB1	Examinatrice
R. ZATOUT	M.A.B UB1	Promotrice

Année Universitaire 2022/2023

Remercîments

Avant tout nous remercions **ALLAH** tout puissant de nous a accordé la force, le courage et la patience pour toutes ces longues années d'étude et pour la Réalisation de ce mémoire que nous espérons être utile.

Nous adressons nos chaleureux et profonds remerciements, et nos vives reconnaissances à notre promotrice Madame ZATOUT Roukia qui a accepté de nous encadrer, pour nous conseiller et nous orienter durant la réalisation de ce travail.

Nos vifs remerciements vont également aux membres de jury, chacun à son nom, Madame BENKORTEBY. H Présidente et Madame BENSAID. F Examinatrice. Pour l'intérêt qu'elles ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nos remerciements s'étendent également à tous nos enseignants durant les années des études, particulièrement nos enseignants qui ont veillé à notre formation durant notre cursus.

Nous tenons à remercier tous nos collègues d'étude, en particulier notre promotion biotechnologie microbienne (2022 – 2023).

Enfin nos remerciements vont également à toute personne ayant participé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail, trouve ici l'expression de nos très vifs.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

Mes Parents « MOHAMMED et HAKIMA »

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez pour tous vos sacrifices, Pour votre patience, votre soutien, et votre encouragement, Et j'espère être toujours à la hauteur de vos espérances que Dieu vous garde et vous procure santé, bonheur et longue vie.

À ma chère sœur : « CHAFIKA ».

À mon fiancé « M » Qui n'a jamais cessé de me soutenir pour que je puisse finir mes études et surtout être le meilleur.

À l'ensemble de mes professeurs lors de mon cursus scolaire et universitaire.

À mon binôme ma chère amie INESSE avec qui j'ai vécu mes meilleurs moments et elle n'a jamais cessé de m'encourager.

À Tous mes amis Manel, Manel, Radia, Safaa.

ROKIA

Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ce qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverai jamais à leur exprimer mon amour sincère

A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon Cher père FODIL.

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère KHADIDJA.

A ma chère sœur TESNIME et mon cher frère TAHA. Que dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.

A ma grand-mère Aicha, mes oncles, mes tantes Malika, Latifa Dahbia et Dalel. Qui n'ont pas soucis de me conseiller, encouragé et soutenir tout au long de mes études.

A mes cousines WIDAD et IMENE, ceci est ma profonde gratitude pour votre amour éternel, que Dieu vous donne santé, courage, bonheur et surtout réussite.

À l'ensemble de mes professeurs lors de mon cursus scolaire et universitaire.

À mon binôme et ma chère amie ROKIA avec qui j'ai passé les meilleurs moments de ma vie. Pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet. Que dieu vous protège et perpétue notre amitié.

A mes amis MANEL, MANEL, RADIA et Safaa.

INESSE

Listes des figures :

Figure 1. Champignon <i>A. mellea</i>	3
Figure 2. Pied (tige) d' <i>A. mellea</i>	4
Figure3. Spores d' <i>A. mellea</i>	4
Figure 4. Aire et géographique	6
Figure 5. Pourridié-agaric à <i>A. mellea</i>	8
Figure 6. Les différents acides gras chez <i>A. mellea</i>	14
Figure 7. Test de l'activité antibactérienne par la méthode des disques.....	22
Figure 8. Test de l'activité antifongique par la méthode des disques.....	23
Figure 9. Extrait d' <i>A. mellea</i>	25
Figure 10. Glycoside cardiaque de l' <i>A. mellea</i>	27
Figure 11. A. G de l' <i>A.mellea</i>	27
Figure 12. Composés réducteurs chez l' <i>A.mellea</i>	28
Figure 13. <i>A. mellea</i> (Acét.Ethyl) testée sur la souche bactérienne <i>E. coli</i>	30
Figure 14. <i>A. mellea</i> (Acét.Ethyl) testée sur la souche bactérienne <i>Staphylococcus sp</i>	30
Figure 15. <i>A. mellea</i> (Acét.Ethyl) testée sur la souche bactérienne <i>Salmonella sp</i>	31
Figure 16. <i>A. mellea</i> (Acét.Ethyl) testée sur les deux souches fongique <i>Aspergillus sp</i> et <i>Fusarium sp</i>	32

Liste des tableaux :

Tableau 1. Description du Champignon <i>A. mellea</i>	5
Tableau 2. Les catégories de lipides.....	11
Tableau 3. La concertation des acides gras dans le corps de fruit et la tige d' <i>A.mellea</i>	14
Tableau 4. Matériel biologique utilisée	17
Tableau 5. Propriétés organoleptiques de l'extrait d' <i>A.mellea</i>	25
Tableau 6. Rendement de l'extrait d' <i>A.mellea</i>	26
Tableau 7. Résultats des tests phytochimiques chez l' <i>A.mellea</i>	26
Tableau 8. Effets de l'activité antibactérien.....	30
Tableau 9. Effet de l'activités anti fongique.....	32
Tableau 10. L'appareillage utilisé lors de notre étude.....	41
Tableau 11. La composition des milieux de cultures utilisées	42

Liste des abréviations :

Acét.Ethyl. Acétate d'éthyle

A.G. Acide gras

A. mellea. *Armillaria mellea*

DI. Diamètres d'inhibition

E. coli. *Escherichia. Coli*

Résumé

L'exploitation de nouvelles molécules bioactives et leur adoption comme une alternative thérapeutique aux molécules synthétiques sont devenues des objectifs prioritaires pour les recherches scientifiques. L'*Armillaria mellea* est une espèce des basidiomycètes qui présente une gamme de composés bénéfiques (tel que les acides gras) pour leur propriété biologique.

Les investigations phytochimiques ont révélé la présence des acides gras, des composés réducteurs, glucosides, tanins, alcaloïdes et flavonoïdes dans *A. mellea*.

L'extraction des acides gras du champignon *Armillaria mellea* résulte un bon rendement de 66,7 % ensuite une activité antibactérienne et antifongique de l'extrait de ce champignon (Acétate d'éthyle) a été testée *in vitro* sur la croissance des microorganismes : *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Staphylococcus sp*, *Fusarium sp* et *Aspergillus sp*. Les tests d'inhibition réalisés ont permis de mesurer leurs niveaux de résistance.

Les tests antibactériens, ont révélé que l'extrait de l'acétate d'éthyle de l'espèce *A. mellea* sur la souche de *Salmonella sp* a montré une zone d'inhibition de **3 mm**, *E. coli* une zone d'inhibition de **12mm** et avec *Staphylococcus sp* une zone d'inhibition de **4mm**.

Les tests antifongiques de l'extrait de l'acétate d'éthyle de l'espèce *A. mellea* effectué sur les souches de *Fusarium sp* et *Aspergillus sp* n'ont montrés aucune zone d'inhibition avec la présence de contamination.

Mots-clés : Extraction; acides gras; extrait; *Armillaria mellea*; activité antibactérienne ; activité antifongique.

Abstract

The exploitation of new bioactive molecules and their adoption as a therapeutic alternative to synthetic molecules have become priority objectives for scientific research. *Armillaria mellea* is a species of basidiomycetes that exhibits a range of beneficial compounds (such as fatty acids) for their biological properties.

Phytochemical investigations revealed the presence of fatty acids, reducing compounds, glucosides, tannins, alkaloids and flavonoids in *A. mellea*.

The extraction of fatty acids from the mushroom *Armillaria mellea* results in a good yield of 66.7%, then the antibacterial and antifungal activity of the extract of this mushroom (ethyl acetate) was tested in vitro on the growth of microorganisms: *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Staphylococcus sp*, *Fusarium sp* and *Aspergillus sp*. The inhibition tests carried out made it possible to measure their resistance levels.

Antibacterial tests revealed that the ethyl acetate extract of the *A. mellea* species on the *Salmonella sp* strain showed an inhibition zone of 3mm, *E. coli* an inhibition zone of 12mm and with *Staphylococcus sp* an inhibition zone of 4mm.

Antifungal tests of the ethyl acetate extract of the species *A. mellea* carried out on strains of *Fusarium sp* and *Aspergillus sp* showed no zone of inhibition with the presence of contamination.

Keywords: Extraction; Fatty acids; extract; *Armillaria mellea*; antibacterial activity; antifungal activity.

ملخص

لقد أصبح استغلال الجزيئات الجديدة النشطة بيولوجيا واعتمادها كبديل علاجي للجزيئات الاصطناعية من الأهداف ذات الأولوية للبحث العلمي. *Armillaria mellea* هو نوع من الفطريات القاعدية التي تعرض مجموعة من المركبات المفيدة (مثل الأحماض الدهنية) لخصائصها البيولوجية. كشفت الدراسات الكيميائية النباتية عن وجود الأحماض الدهنية ومركبات الأرجاع والجلوكوزيدات والعفص والقلويدات والفلافونويدات في *A. mellea* استخلاص الأحماض الدهنية من فطر *A. mellea* يؤدي إلى إنتاجية جيدة بنسبة 66.7%، ثم تم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا والفطريات لمستخلص هذا الفطر (أسيئات الإيثيل) في المختبر على نمو الكائنات الحية الدقيقة *E. coli*، *Salmonella sp.*، *staphylococcus*، *Aspergillus Sp.*، *Fusarium sp.*، *sp* أجريت إختبارات التثبيط مع قياس مستويات مقاومتهم. أظهرت الاختبارات المضادة للبكتيريا أن مستخلص اسيئات الايثيل ل *A. mellea* على سلالة *salmonella sp* منطقة تثبيط 3 مم، *E. coli* منطقة تثبيط 12 مم، و *staphylococcus sp* منطقة تثبيط 4 مم. أظهرت الاختبارات المضادة للفطريات أن مستخلص اسيئات الايثيل ل *A. mellea* التي أجريت على سلالات *Aspergillus sp* و *Fusarium sp* عدم وجود منطقة تثبيط مع وجود التلوث. الكلمات المفتاحية: استخلاص ؛ الأحماض الدهنية؛ مستخلص ؛ *Armillaria mellea*؛ نشاط مضاد للبكتيريا ؛ نشاط مضاد للفطريات.

Table des matières :

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....1

Chapitre I. Synthèse bibliographique

I.1.Généralités sur le genre *Armillaria mellea*.....3

I.1.1. Définition.....3

I.1.2.Taxonomie.....4

I.1.3. Description.....4

I.1.4. La distribution d'air géographique de l'*A.mellea*5

I.1.5. Le cycle de vie d'*Armillaria*6

I.1.6. *Armillaria mellea* (agent pathogène)7

I.1.7.Les symptômes8

I.2. Les métabolites.....9

I.2.1. Les lipides.....11

I.2.1.1. Catabolisme des lipides.....12

I.2.1.2. Les lipides chez l'*Armillaria mellea*.....12

I.2.2. Les acides gras.....12

I.2.2.1. Catabolisme des acides gras.....13

I.2.2.2. Les acides gras chez l'*Armillaria mellea*.....13

I.2.3. Rôle et l'intérêt des acides gras.....14

Chapitre II. Matériel et Méthodes

II.1. Matériels.....	16
II.1.1. Matériels non biologique	16
II.1.2. Matériels biologique	16
II.1.3. Matériels fongique	17
II.2. Méthodes.....	17
II.2.1. L'extraction.....	17
II.2.2. Méthode de macération.....	17
II.2.3. Détermination du rendement d' <i>A.mellea</i>	18
II.4. Criblage phytochimique.....	18
II.4.1. Préparation des extraits.....	18
II.4.1.1. Extrait aqueux	18
II.4.1.2. Extrait Méthanoïque.....	18
II.4.2. Dépistage.....	18
II.4.2.1. Alcaloïdes	18
II.4.2.2. Composés réducteurs.....	18
II.4.2.3. Glycosides cardiaques.....	19
II.4.2.4 Tannins	19
II.4.2.5. Flavonoïdes.....	19
II.4.2.6. Stérols et tri terpènes.....	19
II.5. Tests d'activités biologiques	19
II.5.1. Test de l'activité antibactérienne (méthodes des disques)	19
II.5.2. Test de l'activité antifongique.....	21

Chapitre III. Résultats et discussions

III.1. Extraction des acides gras.....	24
III.1.1. Les caractères organoleptiques.....	24
III.1.2. Le rendement des extraits.....	24
III.2. Criblage phytochimique	25
III.3. L'activité antibactérienne.....	28
III.4. L'activité antifongique.....	31

Conclusion

Références bibliographiques



Introduction

Introduction

Introduction

Le fait que de nombreuses bactéries ont développé une résistance à la plupart des antibiotiques, la maîtrise des infections bactériennes devient complexe ce qui a constitué un problème de santé important à l'échelle mondiale. Il semble donc important de trouver des nouvelles molécules bioactives ayant des effets secondaires limités ou inexistantes depuis des sources naturelles et leurs adoptions comme une alternative à l'utilisation des antioxydants synthétiques et des antibiotiques classiques à cause des effets indésirables de ces derniers. (**Abdallah et al., 2019**).

La recherche sur les champignons sauvages comestibles d'intérêt nutritionnel et médicinal a considérablement augmenté ces dernières années et s'oriente aujourd'hui vers la découverte de nouvelles sources bénéfiques pour la santé humaine. *Armillaria* (Basidiomycota, Physalacriaceae) vit en symbiose avec les arbres et cette association mycorhizienne favorise la croissance des forêts naturelles et des plantations commerciales ce qui les rend écologiquement et économiquement importants, ce sont des champignons du bois et de la pourriture des racines qui sont largement répandus dans une gamme de climats dans le monde entier et impacte plus de 500 espèces hôtes. Les espèces pathogènes d'*Armillaria* sont des nécrotrophes facultatifs qui causent une pourriture blanche des tissus du bois en décomposant tous les composants des parois cellulaires végétales (**Devkota et al., 2020**).

A.mellea est un champignon comestible sous certaines conditions (les jeunes fructifications convenablement préparées sont comestibles), il est souvent utilisé pour sa valeur culinaire et est disponible dans le commerce en Europe. De nombreuses espèces comestibles telles que l'*A.mellea* contiennent une grande diversité de biomolécules aux propriétés nutritionnelles et biologiques telles que des acides aminés, des lipides et des glucides, des vitamines, des minéraux et des compositions de sucre, qui ont des rôles biologiques importants. Elles sont également connues pour leur richesse en composés phénoliques, en flavonoïdes et en tannins. Cette diversité de biomolécules dans cette espèce est également responsable d'autres activités biologiques, à savoir les propriétés antibactériennes et antifongiques. (**Abdallah et al., 2019**).

La présente étude visait à effectuer une extraction des acides gras, une étude de la composition chimique par la méthode du criblage phytochimique et l'évaluation de l'activité antimicrobienne de champignon du miel *A. mellea*.



Chapitre I
Synthèse bibliographique

I.1. Généralités sur le genre *Armillaria mellea*:

I.1.1. Définition :

Le nom *Armillaria* provient d'un mot latin qui signifie un bracelet, un anneau ou une épaulette. Et qui se rapporte à une caractéristique de la plupart des espèces d'*Armillaria*, un large anneau persistant, semblable à une peau attachée à la partie supérieure du stipe (Agata *et al.*, 2018), il n'a aucune odeur et sécrète des antibiotiques naturels telle que l'acide armellarique (Obuchi *et al.*, 1990). C'est un genre de champignons phytopathogène du phylum Basidiomycota, comprenant Environ 70 espèces connues (Sipos *et al.*, 2018), C'est un pathogène racinaires sur les plantes ligneuses dans toutes les régions tempérées et la plupart des régions tropicales du monde, de nombreuses espèces sont des pathogènes sérieux d'une large gamme de conifères et de feuillus et d'arbustes indigènes plantés dans les forêts, les vergers et les jardins (Coetzee *et al.*, 2001). *A. mellea* champignons de pourriture des racines ou appelés champignons du miel se développe sur le bois dur, mais aussi sur n'importe quel matériau en bois. C'est un parasite qui infecte les racines des arbres vivants, provoque la mortalité, la pourriture du bois et la réduction de la croissance, pénètre les racines de plantes saines en l'absence de blessures. Il peut être aussi un mycorhize qui cohabite avec plusieurs espèces (Bozena *et al.*, 2018) ; Il vit en symbiose avec l'herbe médicinale chinoise (*Gastrodia elata* Blume) (Orchidaceae) (Gao *et al.*, 2001).



Figure. 1 : Champignon *A. mellea* (Kumm, 2018).

I.1.2. Taxonomie :

Le complexe d'*Armillaria* est constitué de plusieurs espèces très difficiles à distinguer, même pour les spécialistes. Au début des années soixante, la littérature sur *A. mellea* était extrêmement confuse. Différents chercheurs la considéraient soit comme un pathogène virulent (à l'ouest), soit comme un pathogène opportuniste dans l'est des États-Unis. (**Burdsall et al.,1993**), Il est important de souligner que, bien que le nom *A. mellea* est bien établi dans la littérature, les formes du champignon mellifère sont variables et que les taxonomistes ne sont pas unanimes quant à l'interprétation de l'espèce, ce qui explique qu'il est courant d'utiliser le nom *A. mellea* pour désigner le champignon mellifère (**Kumm,2018**) . Il appartient à un large groupe taxonomique avec la classification suivante :

- Règne : *Fungi*
- Division : *Basidiomycota*
- Classe : *Agaricomycetes*
- Sous-classe : *Agaricomycetidae*
- Ordre : *Agaricales*
- Famille : *Physalacriaceae*
- Genre : *Armillaria* (**Burdsall et al.,1993**).

I.1.3. Description :

L'armillaire couleur de miel se reconnaît facilement car il apparaît en touffes et son pied est entouré d'un anneau, et le tableau suivant montre une description détaillée de l'armillaire couleur de miel (**Nierhaus-Wunderwald et al., 2012**).



Figure 2: Pied (tige) d'*A. mellea* (Larss, 2015).

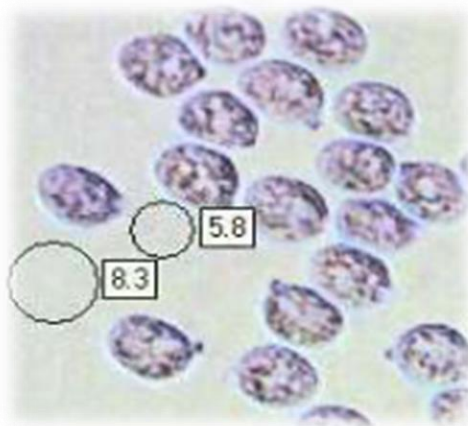


Figure3. Spores d'*A. mellea* (Paul et al., 2011).

Chapitre I Synthèse bibliographique

Tableau. 1 : Description du Champignon *A. mellea*. (Kumm, 2018).

Chapeau de pileus	1,6-7,5 cm de diamètre, sphérique, brusquement conique à convexe quand il est jeune, plan-convexe, surface sèche, jaune à brun olive, brun jaunâtre foncé à brun olive foncé au centre, parfois grisâtre très foncé marron, pigments dispersés en surface, un peu couverte de jaunâtre foncé- -fibres fines brunes vers le centre. Marge généralement enroulée jeune puis aigu plus tard, avec un chapeau ou un peu plus sombre plus tard. Chair ferme, fine à épais au centre; fermé par un voile blanc.
Lamelles branchies	0,6-3,8 × 0,2-0,8 cm, blanc à jaune vers la marge quand il est jeune puis jaune à brun jaunâtre en âge, proches, décurrentes.
Pied (tige)	Central, 3,6-10 × 0,4-1,0 cm, cylindrique, égal à légèrement effilée de la base à l'apex, pâle jaune à jaune à l'apex et très foncé brun grisâtre à brun très foncé vers la base, longitudinalement fibrilleuse-striée, couverte d'écaillés fibreuses de couleur jaune à l'apex et jaune pâle vers la base, solide. Anneau membraneux, épais, généralement ininterrompu et attaché au stipe, blanc avec des fibres jaunes sur le dos. Un large anneau persistant ressemblant à la peau attachée à la partie supérieure du stipe(Figure2).
Spores	Masse blanche, largement elliptique, à apicule, 10-13,5 × 6-8 µm, lisse, hyalin, non amyloïde (Figure 3). C'est une espèce extrêmement polymorphe, en taille, en forme et en couleur. Il existe une espèce proche, <i>Armillaria</i> dépourvue d'anneau, Le mycélium est bioluminescent.

I.1.4. La distribution d'air géographique de l'*A. mellea* :

L'*armillaire* est signalé en Australie, en Afrique et en Europe (Lanier, 1986). Elle se retrouve surtout le pourtour méditerranéen et se comporte en parasite de faiblesse sur les racines. L'espèce *A. mellea* est largement répandu en présence d'un climat atlantique, comme en

Chapitre I Synthèse bibliographique

Angleterre, dans une partie de l'Europe, une partie de la France et le climat méditerranéen en Italie, au Portugal et en Espagne (**figure 6**).

En Algérie l'*A. mellea* a été signalé sur cèdre de l'Atlas dans la forêt de Belezma (Aurès), des forêts du Parc National de Chréa (Blida), et Parc National de Teniet-El-Had (Ouarsenis), et a été retrouvé sur chêne zeen et chêne liège dans la forêt de Baïnem par l'Équipe de pathologie du Département de Protection des Forêts. (I.N.R.F.), (**LANIERL, 1986**).

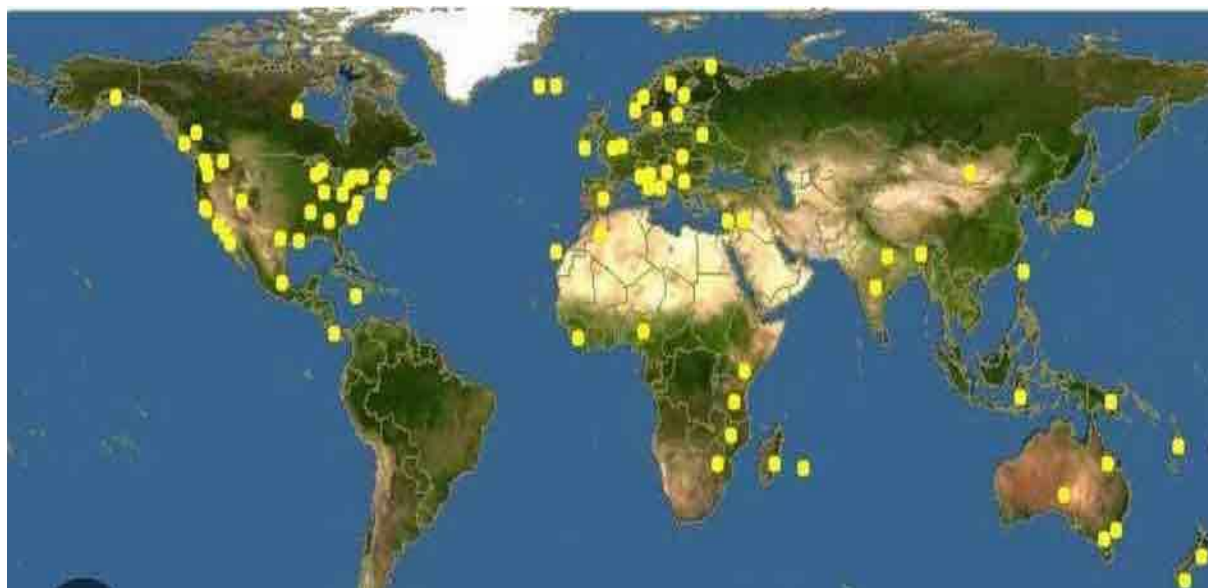


Figure. 4 : Aire et géographique (Kumm, 2018).

I.1.5. Cycle de vie d'*Armillaria* :

Le cycle de vie d'*Armillaria* commence par la fusion de deux hyphes de types d'accouplement différents ("+" et "-") du mycélium primaire haploïde. Au cours de l'interaction dans le processus de plasmogamie, les cellules hyphales deviennent dikaryotiques et donnent le coup d'envoi à la croissance des éléments suivants du mycélium secondaire dikaryotique, qui avec le temps forme un corps de fructification dikaryotique entièrement développé. Les branchies du chapeau du corps fructifiant sont tapissées de basides dikaryotes, formant des basidiocarpes. C'est là, dans les basidiocarpes, que se déroule l'étape suivante, la caryogamie. La fusion des noyaux se produisant dans les basides d'un basidiocarpe fait que chacun d'eux possède un seul noyau haploïde. Lorsque cette étape est terminée, les basides subissent une méiose formant quatre noyaux haploïdes qui donnent naissance à quatre basidiospores. Après la libération des basidiospores et après avoir rencontré les conditions appropriées, elles sont prêtes à germer et à former à nouveau le mycélium primaire haploïde (**Kumm,2018**).

I.1.6. *Armillaria mellea* (agent pathogène) :

La plupart des espèces d'*Armillaria* sont pathogènes qui provoquent la maladie de la pourriture des racines dans une large gamme d'espèces comprenant conifères et les feuillus, les arbustes et certaines plantes herbacées. (Devkota *et al.*, 2020).

A. mellea signalée à plusieurs reprises comme étant virulente sur les cultures de fruits et de noix, les arbres forestiers et les Arbres urbains dans le monde entier (Devkota *et al.*,2020). Le mécanisme pathogène de l'action d'*A.mellea* peut être double, il a été décrit comme passant par deux phases :

- **La phase parasitaire** : qui comprend la colonisation des racines vivantes. Cette phase se termine lorsque le champignon tue le cambium (Devkota *et al.*, 2020).
- **La phase saprophyte** : commence dans laquelle le champignon utilise les tissus morts en les utilisant comme nourriture (Kumm,2018).

A. mellea envahit les arbres déjà blessés et affaiblis en pénétrant par la plaie, l'infection peut se produire de trois manières : les infections par le mycélium et les rhizomorphes, les moyens de dispersion à courte distance (Kumm, 2018).

A. mellea utilise ses rhizomorphes qui peuvent s'attacher à la racine et peuvent traverser la couche de liège qui protège la racine :

L'entrée est d'abord conduite par une force mécanique appliquée par la pointe d'un Rhizomorphes, les cellules hôtes étant légèrement poussées et compressées sans dommage, la pointe de la branche pénétrante sécrète des enzymes qui agissent sur les écorces des racines en les dégradant le champignon envahisse l'hôte et s'en empare(Kumm,2018).

Les racines et les tissus ligneux colonisés par le mycélium servent de source d'inoculum lorsque les racines replantées ou d'arbres adjacents entrent en contact (Devkota *et al.*, 2020).

Les arbres sains sont infectés soit par le contact des racines avec substrats ligneux infectés ou par des rhizomorphes du sol poussant à partir de substrats ligneux infectés à partir d'une source d'inoculum appropriée, le mycélium forme une structure spécialisée ressemblant à une racine, Le rhizomorphes, qui se propage sous terre (Devkota *et al.*, 2020).

Le mycélium d'*Armillaria* se développe non seulement dans les racines des arbres mais s'étend aussi le long du tronc atteignant même quelques mètres de haut (Kumm,2018).

Chapitre I Synthèse bibliographique

Le dernier mode d'infection, est une infection à base de basidiospores se produit lorsque les Basidiospores sont dispersées par le vent dans de nouvelles zones non infectées. Les Basidiospores semblent être un outil idéal pour répandre l'infection sur une grande distance mais en raison des difficultés de colonisation des souches, elles ne sont pas et ce type d'infection se produit assez rarement (**Kumm,2018**).

I.1.7. Symptômes :

Les symptômes d'une infestation par *A. mellea* comprennent :

- Les symptômes spécifiques de la pourriture blanche s'observent dans le système racinaire et le collet de la plante, où l'écorce est détachée et en dessous, dans la zone cambiale, des masses mycéliennes blanches et crémeuses en forme de doigts colonisent les tissus. Lorsque les conditions environnementales et la quantité d'inoculum le permettent, les fructifications de couleur miel peuvent apparaître à la base des plantes affectées. (**Camprubi et al., 2020**).
- Une coloration automnale et une chute des feuilles prématurées, un retard de croissance, le Jaunissement ou le brunissement du feuillage, un déclin général de la vigueur de l'arbre hôte ou de la végétation, et le dépérissement des rameaux, des branches et des tiges principales. (**Humphreys et al., 2002**).
- Les grands arbres, vigoureux ou légèrement infectés peuvent développer des symptômes de couronne sur un certain nombre d'années jusqu'à ce que les arbres meurent alors qu'ils sont Petits. Les arbres de petite taille, très infectés ou peu vigoureux développent rapidement des symptômes, le feuillage se décolore rapidement et l'arbre hôte est souvent victime d'une Attaque. (**Humphreys et al.,2002**).



Figure 5 : Pourridié-agaric à *A. mellea* (Guillaumin, 2005)

I.2. Les métabolites :

La composition chimique des champignons supérieurs est un sujet de recherche pour vérifier les valeurs thérapeutiques et culinaires des champignons et aspects toxicologiques de leurs actions. L'un des groupes de métabolites de champignons les plus connus sont les polysaccharides, souvent étudiés principalement en raison de leur importance dans le traitement du cancer; L'activité anticancéreuse des polysaccharides est multidirectionnelle. Ils réduisent les dommages à l'ADN, diminuent la concentrations de cancérigènes et inhibent l'activation et le développement des cellules cancéreuses, en les éliminant les radicaux libres et stimulant le système immunitaire, ou en induisant l'apoptose. En raison de leur capacité à activer le système immunitaire, ils peuvent aider non seulement au traitement du cancer mais également aux maladies infectieuses.

Les composés terpéniques sont des groupes plus largement étudiés de métabolites, Il a été démontré que beaucoup d'entre eux possèdent des propriétés anticancéreuses, les études sûres

Les composés présents dans les espèces de champignons supérieures ont démontré la présence de nombreux protéines, acides aminés, peptides, enzymes et hétérocycliques composés. Une majorité d'espèces Basidiomycètes sont également source précieuse de stérols, d'acides gras insaturés, protéines, certaines vitamines et sels minéraux.

Des études récentes de la composition chimique d'*A. mellea* ont démontré la présence d'une gamme de composés bénéfiques pour leur biologique propriétés. Ces composés appartiennent aux groupes chimiques suivants : glucides, stérols, sphingolipides, acides gras, sesquiterpénoïdes, composés indoles, peptides, enzymes et composants minéraux. Ils ont un potentiel antibactérien, fibrinolytique, anticancéreux, anti-athérogène et immunostimulant thérapies et protègent le cerveau et les cellules de la moelle osseuse et ils ont des propriétés diététiques. (Muszynska *et al.*, 2011).

Les études sur les polysaccharides des fructifications d'*A. mellea* ont démontré la présence de β -glucane avec un composant peptidique. Ils ont révélé une activité anticancéreuse de cette fraction.

- ✓ L'ergostérol (provitamine D) est le plus courant stérol présent chez tous les représentants des niveaux supérieurs Basidiomycètes, Ergostérol et ergostérol le peroxyde sont les principaux composés appartenant à ce groupe chez *A. mellea* ; ce dernier a été démontré qu'elle possède des propriétés anticancéreuses

Chapitre I Synthèse bibliographique

- ✓ L'armillaramide est un composé appartenant aux sphingolipides; est un groupe de lipides incite possède un grand intérêt en raison de leurs propriétés biologiques. Certains composés de ce groupe ont été démontrés comme produisant des actions anticancéreuses, anti hépatotoxiques et immunostimulantes.
- ✓ Malgré que les fructifications des Basidiomycètes supérieurs se caractérisent par une faible teneur en matières grasses, ils contiennent des acides gras insaturés et leur quantité a été estimée à plus de 70% de la teneur totale en matières grasses. Ces acides gras insaturés sont indispensables pour le bon fonctionnement de l'homme, puisqu'ils sont des précurseurs des composants biliaires, sont cruciaux pour la prostacycline et la synthèse des prostaglandines, et possèdent des propriétés antiathérogènes.
- Les fructifications d'*A. mellea* produisent également des enzymes participant à la décomposition des parois cellulaires, telles que la cellulase, l'hémi cellulase et la peroxydase, qui leur permet de pénétrer dans les tissus des arbres lors de l'invasion. Il contient les 12 éléments suivants : K, Na, Mg, Ca, Fe, Zn, Mn, Cu, Pb, Cd, Hg et Ag. Les études ont démontré que le sélénium est l'un des principaux antioxydants de l'organisme.
- Les corps fruitiers des *A. mellea* contient d'autres composés thérapeutiquement importants.

Représentant d'autres groupes chimiques:

- ✓ Peptides : Prosomatostatine qui présente des propriétés anticancéreuses.
- ✓ Antibiotiques sesquiterpéniques: l'acide armellarique qui inhibe les bactéries Gram-négatives et les levures.
- ✓ Dérivés de l'adénosine: AMG1, 6-(5-hydroxy-2-pyridyl-méthylamino) -9- β -ribofuranozyl purine, caractérisé par des propriétés neuroprotectrices.

A. mellea et d'autres espèces de basidiomycètes supérieurs sont utiles dans le traitement de maladies telles que l'hypertension, l'athérosclérose, le diabète et l'obésité. Par conséquent, une supplémentation alimentaire en champignons est recommandée.

Chapitre I Synthèse bibliographique

Il convient de noter que dans de nombreuses monographies *A. mellea* est classé comme champignon parasite. En effet, c'est un dangereux parasite des arbres, mais il est également impliqué dans la décomposition de la matière morte et est capable de développer une association symbiotique viable. Cette espèce exceptionnellement intéressante mérite une étude plus approfondie de sa composition chimique et l'observation de sa physiologie et biologie. (Muszynska *et al.*, 2011).

I.2.1. Les lipides :

Les lipides sont l'un des trois composés importants du processus anabolique (les glucides et les protéines) qui font partie des « matières grasses » des organismes vivants (This Huyen, 2014). Sont des substances organiques caractérisés par une propriété physique « la solubilité », ils ont une solubilité nulle ou faible dans l'eau, mais par contre élevée dans les solvants organiques apolaires tels que l'hexane, le chloroforme sont des molécules, soit complètement apolaires (lipide neutre), soit bi polaires, avec une tête polaire liée à une chaîne fortement apolaire. Les lipides sont principalement constitués de carbone, d'hydrogène et d'oxygène et ont une densité inférieure à la densité de l'eau. Les lipides, qui sont produits par les champignons, sont divers composés qui sont solubles dans des solvants organiques non polaires (Louahab, 2018).

On distingue trois catégories des lipides :

Tableau 2 : Les catégories de lipides (Thi huyan, 2014).

Lipides vrais	Lipides simples	Acides gras
		Glycérides
		Stérides
		Cérides
	Lipides complexes	Glycérophospholipides
		Glycéroglycolipides
		Sphingolipides
Composés à caractère lipidique	Eicosanoïdes	

Composés à caractère lipidique	Terpènes et composés terpéniques
--------------------------------	----------------------------------

I. 2.1.1. Catabolisme des lipides

Les champignons peuvent utiliser les lipides comme source d'énergie et de carbone. Ils sont capables de synthétiser leurs propres lipides qui ne sont d'habitude pas ajoutés aux milieux de culture. Les réserves de lipides (essentiellement glycérides) peuvent servir comme une source d'énergie quand c'est nécessaire, par exemple pendant la germination des spores. Le catabolisme des lipides commence avec l'hydrolyse des triglycérides par les lipases qui libèrent le glycérol et les acides gras. Le glycérol peut subir la glycolyse après sa phosphorylation et son oxydation en 3-phosphoglycéraldéhyde et acides gras. Ces derniers doivent subir une dégradation ultérieure avant de pouvoir être utilisés. (Nasraoui, 2018).

I. 2.1.2. Les lipides chez *A.mellea*

La teneur en lipides totaux des champignons est en moyenne de 5 à 8 % et la teneur en lipides totaux d'*A.mellea* été estimée à 1,8 %, ce qui est plutôt faible. Les premiers rapports d'identification des stérols dans les corps fructifères des champignons remontent à 1887. Les stérols typiques des champignons sont fortement insaturés, et très fréquents dans les champignons, l'ergostérol (provitamine D) est le stérol le plus courant, que l'on retrouve chez tous les représentants des basidiomycètes supérieurs. L'ergostérol et le peroxyde d'ergostérol sont les principaux composés appartenant à ce groupe chez *A. mellea*. Ce dernier composé s'est avéré une propriété anticancéreuse. Bien que la composition lipidique des champignons soit étudiée depuis 170 ans, on sait relativement peu de choses sur les acides gras 2. Hydroxy qui les composent. (Proštenik et al., 1978).

I. 2.2. Les acides gras

Les A.G sont les éléments constitutifs des graisses et des huiles alimentaires à des longueurs des chaînes de carbone allant de 8 à 24 (Thi Huyen, 2014). ; mono insaturés, polyinsaturés et ramifiés, ont un potentiel de réguler le métabolisme des lipides à différents niveaux (Yilmaz et al., 2006). Sont normalement des monoacides, linéaires, à nombre pair d'atomes de carbone puisque la biosynthèse des acides gras implique l'acétylcoenzyme A (acétyl-CoA) qui permet l'ajout de deux atomes de carbones à chaque étape de la synthèse des acides gras. Ils se caractérisent tout d'abord par ; le nombre de carbones de la chaîne puis par le nombre x de

doubles liaisons (**ThiHuyen, 2014**) et par la présence d'un groupe carboxyle (-COOH) à une extrémité et d'un groupe méthyle (-CH₃) à l'autre extrémité. Sont omniprésents dans la nature, ils varient en longueur et en degré de saturation et appartiennent à une classe physiologiquement importante de molécules impliquées dans le stockage de l'énergie cellulaire, dans la structure des membranes et dans diverses voies de signalisation. (**Pohl et al., 2011**).

I. 2.2.1. Catabolisme des acides gras

Le catabolisme des acides gras est principalement une séquence d'oxydation des atomes de B-carbone qui sont les seconds atomes de carbone par rapport aux groupes carboxyle. Ce catabolisme est souvent similaire à celui des animaux. La différence majeure est à la fin du processus où, chez les champignons, l'acide gras perd seulement un atome de carbone, au lieu de deux chez les animaux. (**Nasraoui, 2018**).

I. 2.2.2. Les acides gras chez l'*A.mellea*

Les études ont été menées sur la composition chimique des corps de fructification du champignon de miel culinaire et médicinal « *A. mellea* », la présence de différents groupes de composés organiques, notamment des hydrates de carbone, des stérols, des sphingolipides, des acides gras...etc. Ces groupes de métabolites possèdent des valeurs thérapeutiques et diététiques potentielles. (**Muszynska et al., 2011**). Les acides gras insaturés précurseurs de la bile constituante, sont indispensables à la synthèse de la prostaglandine et de la prostacycline et présentent des propriétés anti athérogéniques ces propriétés sont donc cruciales pour le fonctionnement des humains. (**Humphreys et al., 2002**).

Une analyse détaillée de ces groupes de composés chimiques indique que Vingt-cinq A.G saturés et insaturés, avec une prédominance des acides linoléique (63,80 %), oléique (15,47 %) et palmitique (12,63 %). Les acides polyinsaturés, considérés comme bénéfiques pour la santé humaine, sont prédominants chez *A. mellea* avec (64,12 %), suivis par les A.G saturés (18,42 %) et les acides gras mono insaturés (17,47%). Les rapports sur la composition en acides gras de l'*A.mellea* ont révélé la présence de 17 de ces acides gras (**Kostić et al., 2017**) (**figure 5**). Le rapport acide linoléique/acide oléique pourrait constituer un paramètre important d'un point de vue chimio taxonomique et pourrait être utile pour la différenciation taxonomique entre les espèces d'un même genre (**Yilmaz et al., 2006**).

Tableau 3: La concertation des acides gras dans le corps de fruit et la tige d'*A.mellea* (Yilmaz *et al.*, 2006).

Acides gras	A.G saturés	A.G monosaturé	A.G polysaturés
Corps de fruits	20,6 %	50,1 %	50,6 %
Tige	18,5 %	33,6 %	25,6 %

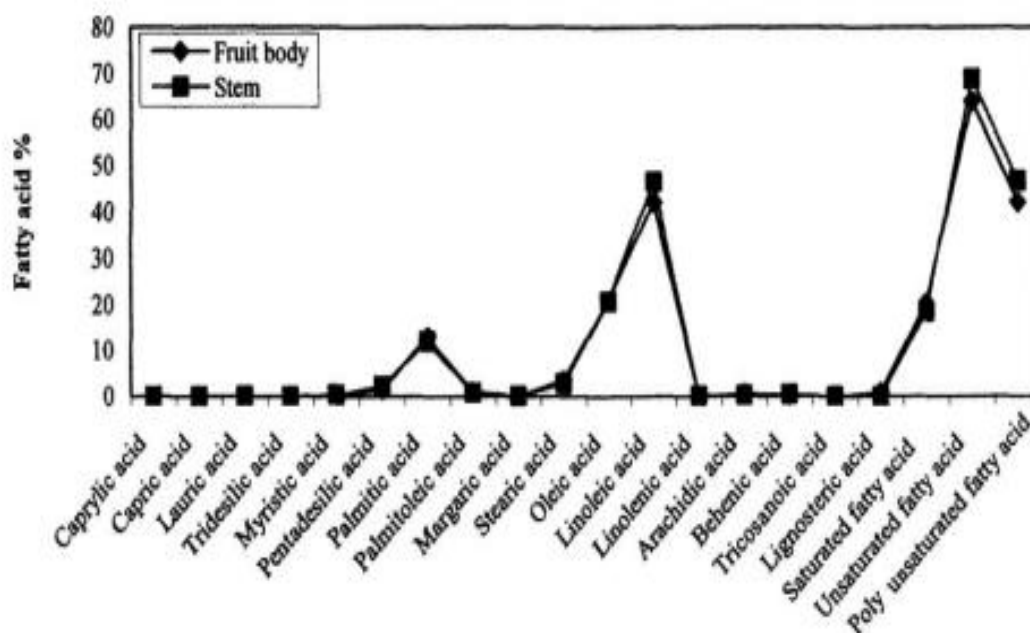


Figure. 6: Les différents acides gras chez l'*A.mellea* (Yilmaz *et al.*,2006).

I. 2.3. Rôle et l'intérêt des acides gras

- **Réserve d'énergie** : stockés sous forme de triglycérides dans les tissus adipeux, les lipides constituent ainsi une réserve énergétique mobilisable (1g de lipide donne environ 9,3 Kcal)
- **Un rôle structural** : les acides gras servent à la synthèse d'autres lipides, notamment les phospholipides qui forment les membranes autour des cellules et des organelles. La composition en acides gras de ces phospholipides donne aux membranes des propriétés physiques particulières (élasticité, viscosité).
- **Un rôle de messenger** : les acides gras sont les précurseurs de plusieurs messagers intra et extracellulaires. Par exemple, l'acide arachidonique est le précurseur des hormones intervenant dans l'inflammation, la coagulation sanguine etc.

Chapitre I Synthèse bibliographique

- **Transport de vitamines** : les corps gras alimentaires véhiculent quatre vitamines liposolubles : (A, D, E et K)(Louahab, 2018).



Chapitre II Matériel et méthode

Chapitre II Matériel et méthode

Les essais de lutte biologiques sont expérimentés à titre d'alternative ou de complément aux méthodes chimique conventionnelles. Dans notre essais nous avons sélectionnés l'extrait d'une espèce fongique *A.mellea* .qui est connue par leur principe actifs .Notre expérimentation a été réalisé au sein de laboratoire pédagogique (PFE) et le laboratoire microbiologie du département de biotechnologie et agro-écologie, Université de Saad Dahleb Blida 1, de Mars jusqu'à juin 2023.

II.1. Matériels :

II.1.1- Matériels non biologique :

Le matériel utilisé durant notre manipulation est composé du matériel non biologique tel que le grand et le petit appareillage, le petit matériel, la verrerie, les solutions et les réactifs (**voir annexe 1**).

II.1.2- Matériels biologique :

Le matériel biologique est composé principalement des souches microbiennes phytopathogène leurs choix a été fait par rapport à leurs disponibilités (**Tableau 4**).

Souche microbienne utilisés	Source
<i>E.coli</i>	Laboratoire de microbiologie, Université (Blida 1).
<i>Salmonella sp</i>	Laboratoire PFE, Université (Blida 1).
<i>Staphylococcus sp</i>	Laboratoire PFE, Université (Blida 1).
<i>Aspergillus sp</i>	Laboratoire de mycologie , Université (Blida 1).isolée dans la région d'Adrar.
<i>Fusarium sp</i>	Laboratoire de mycologie , Université (Blida 1).isolée dans la région d'Adrar.

Tableau 4 : Matériels biologique utilisé dans cette étude

II.1.3 - Matériel fongique

Dans notre travail le matériel végétal utilisé c'est le champignon macroscopique « *Armillaria mellea* » .

La récolte du champignon *A. mellea* a été faite en décembre 2017 et janvier 2018 par **Dr. Zatout**. Ce champignon a été collecté dans une forêt dans la région de Oum Teboul de la Wilaya d'El Taraf, Algérie. Les échantillons récoltés ont subi un prélavage à l'eau, afin d'éliminer tous les débris. Après la récolte, le champignon a été séché à température ambiante dans un endroit aéré à l'abri de la lumière pour mieux sécher. 5 kg de ce champignon ont été coupés en petits morceaux et mis à broyer pour obtenir une poudre. Cette dernière est conservée dans des sacs en papiers jusqu'au moment de l'extraction.

II.2. Méthodes

II.2.1. L'extraction

Nous avons postulé l'extraction des acides gras de l'*A. mellea* par la méthode de macération (extraction solide-liquide). La macération est une opération qui consiste à laisser séjourner la matière fongique dans le méthanol aqueux pour extraire les principes actifs.

II.2.2. Méthode de macération

Le protocole de la macération décrit par **Dr. Zatout et al.**, avec quelques modifications. Une masse de 20g de matériel fongique ont été macéré dans un mélange d'eau/éthanol 50/50 (v/v), le mélange a été agité à l'aide d'un agitateur magnétique pendant 20min. Après 24h le mélange a été filtré. Une deuxième macération a été réalisée. Les deux filtrats ont été combinés et le solvant a été éliminé à l'aide d'un rota vapeur. Dans une ampoule à décanter nous avons mélangé l'extrait de champignon avec 50 ml d'éthyle acétate, puis le mélange a été agité pendant quelques minutes et laissé jusqu'à l'apparition des deux phases (aqueuse et organique). Nous avons récupéré la phase organique dans un bécher et ajouté une cuillère de Na₂SO₄ pour l'élimination d'eau avant la filtration. Une deuxième décantation a été réalisée par la phase aqueuse avec 50 ml d'éthyle acétate. Les deux filtrats ont été combinés et le solvant a été éliminé à l'aide d'un rota vapeur.

II.2.3. Détermination du rendement d'*A. mellea*.

Le rendement est défini comme étant le rapport entre le volume de l'extrait obtenu et la masse du matériel végétal a été traiter (Belyagoubi, 2006). Il est exprimé en pourcentage par rapport à 100 g de matière sèche. Le calcule est effectué par la formule suivante :

$$\text{Rd AG (\%)} = (V / M MV) \times 100$$

Rd AG (%) : rendement en A.G exprimé en pourcentage.

V : volume d'extrait.

M MV : la masse de la matière végétale utilisée (sèche).

II. 4. Criblage phytochimique

Le dépistage phytochimique est un moyen pour mettre en évidence la présence des groupes de familles chimiques (El-Haoud *et al.*, 2018 ; Zatout et Chaouche., 2023). Ce dépistage a été réalisé sur le champignon médicinale *A. mellea*. (Annexe 1) .

II. 4.1. Préparation des extraits :

II.4.1.1. Extrait aqueux : Consiste à introduire 1g de poudre végétale dans 20 ml d'eau bouillante qu'on laisse infuser pendant 15 minutes. Ensuite, on filtre et on rince avec un peu d'eau chaude de manière à obtenir 20 ml de filtrat.

II.4.1.2. Extrait Méthanoïque : Consiste à introduire 1g de matériel végétal dans 20 ml de méthanol puis on le laisse macérer pendant 24h.

II. 4.2. Dépistage

II. 4.2.1. Alcaloïdes : Introduire 10 g de poudre fongique sèche dans un erlenmeyer, à laquelle on ajoute 50ml de H₂SO₄ dilué au 1/10 avec de l'eau distillée. Ce mélange a été agité et macéré pendant 24 h. Ensuite, dans 1ml du filtrat, 5 gouttes de réactif de Dragendorff sont ajoutées. L'apparition d'un précipité orange, révèle la présence d'alcaloïdes.

II. 4.2.2. Composés réducteurs : Leur détection consiste à introduire 2ml de l'extrait aqueux dans un tube à essai, puis 2ml de la liqueur de Fehling sont ajoutés. Ensuite, l'ensemble est porté au bain-marie bouillant durant 8 minutes. L'obtention d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs.

II. 4.2.3. Glycosides : 2 ml de chloroforme est ajouté à 1 ml de l'extrait, l'apparition d'une coloration brun-rougeâtre après l'ajout de H₂SO₄ indique la présence des glycosides.

II. 4.2.4 Tannins : La présence des tannins est mise en évidence en ajoutant à 1 ml de chaque extrait, 1 ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de $FeCl_3$ diluée à 1%. L'apparition d'une coloration vert foncé ou bleue verte indique la présence des tannins.

II. 4.2.5. Flavonoïdes : Les flavonoïdes ont été recherchés par la réaction à la cyanidine. 2 ml de chaque extrait ont été évaporés et le résidu a été repris dans 5 ml d'alcool chlorhydrique dilué deux fois. En ajoutant 2 à 3 copeaux de magnésium, il y a un dégagement de chaleur puis une coloration rose orangé ou violacée. L'addition de 3 gouttes d'alcool iso amylique a intensifié cette coloration qui a confirmé la présence de flavonoïdes.

II. 4.2.6. Stérols et terpènes : Les stérols et les terpènes ont été recherchés par la réaction de Liebermann. 5 ml de chacun des extraits ont été évaporés. Le résidu est dissout à chaud dans 1 ml d'anhydride acétique ; nous avons ajouté 0,5 ml d'acide sulfurique concentré au triturât. L'apparition, à l'interphase, d'un anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert, a indiqué une réaction positive.

II. 5. Tests d'activités biologiques

II. 5.1. Test de l'activité antibactérienne par la méthode des disques

Cette méthode a été utilisée pour mettre en évidence l'activité antibactérienne (**Boutera et al., 2016**), les souches bactériennes utiliser : *E. coli*, *Salmonella sp*, *Staphylococcus sp*.

A. Préparation des disques et Stérilisation du matériel :

- Stériliser à l'autoclave à 121° C pendant 15 à 20 minutes
- Préparer des solutions bactériennes (inoculum),
- Préparer des dilutions de nos échantillons.
- Stériliser les disques en papier Wattman N⁰ 1 (6 mm de diamètres) après enrobage dans les tubes à essai.

B. Milieu de culture :

- Préparer des milieux gélose nutritive pour réaliser le repiquage de la culture pure et l'incuber pendant 18h. (**Annexe 2**).
- Mettre la gélose Mueller-Hinton au bain marie (100°)

Chapitre II Matériel et méthode

-Une foi fondue la maintenir à 45°C jusqu'à utilisation coulée en boîtes de pétri et séchée avant l'emploi.

C. Préparation de l'inoculum :

- Dans la zone septique du bec bunsen et à partir d'une culture pure de 18h sur milieu d'isolement gélose MH,

- Racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester puis nous avons suivi les étapes suivantes (**Boutera et al., 2016**).

- Décharger l'anse dans 10 ml d'eau distillée stérile

- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité de nos suspensions bactériennes a été mesurer au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 625 nm et densité optique obtenue été comprise entre 0,08 et 0,15 ce qui correspond à une densité de 0,5 à l'échelle MC Ferland.

-L'ensemencement doit se faire dans les 15min qui suivent la préparation de l'inoculum.

D. Ensemencement et dépôt des disques :

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, puis essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, ensuite frotter sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas, en stries serrées, cette opération a été répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, l'ensemencement s'est achevé en passant l'écouvillon à périphérie de la gélose.

-Des disques de papier Wattman (6 mm de diamètres) sont imprégnés ensuite d'une petite quantité du notre extrait (environ 20 µl) puis déposés sur la surface de la gélose par une pince stérile.

-Les boîtes de pétri sont d'abord laissées pendant 1h à la température ambiante pour une pré-diffusion des substances (**figure 7**), avant d'être incubées à 37°C à l'étuve pendant 24h. Lecture des antibiogrammes.

Un extrait est considéré actif lorsqu'on mesure une zone d'inhibition autour du disque d'un diamètre supérieur à 10 mm et à l'intérieur de laquelle aucune croissance bactérienne n'est observée (**Boutera et al., 2016**).

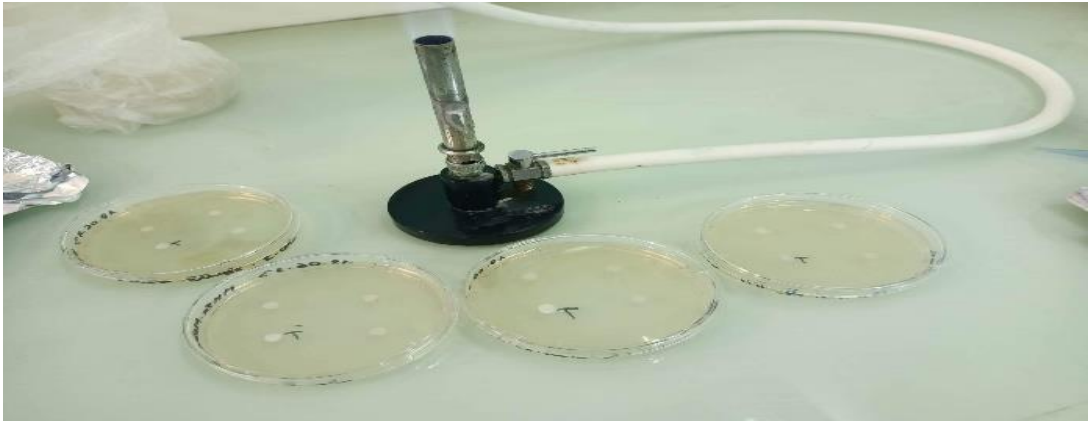


Figure 7: Test de l'activité antibactérienne par la méthode des disques (Origine, 2023).

II. 5.2. Test de l'activité antifongique

Dans cette étude deux souches fongiques ont été choisies appartenant au genre *deutéromycètes*, font partie de la collection des organismes phytopathogène.

L'activité antifongique de l'extrait d'éthyle acétate de l'*A. mellea* est réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé à partir de disques poser d'extraits ou d'antifongiques de références. (Coulibaly *et al.*, 2020).

Le principe de la méthode des disques repose sur la diffusion de la substance antifongique active dans la gélose contenant le germe à partir d'un disque.

A. Préparation des disques et Stérilisation du matériel :

-Stériliser les disques en papier Wattman N⁰ 1 (6 mm de diamètres) après enrobage dans les tubes à essai.

B. Milieu de culture :

-Préparer du milieux PDA. (Annexe 2).

-Stériliser à l'autoclave à 121° C pendant 15 à 20 minutes

- Dans la zone septique du bec bunsen on coule les milieux dans les boites de pétries

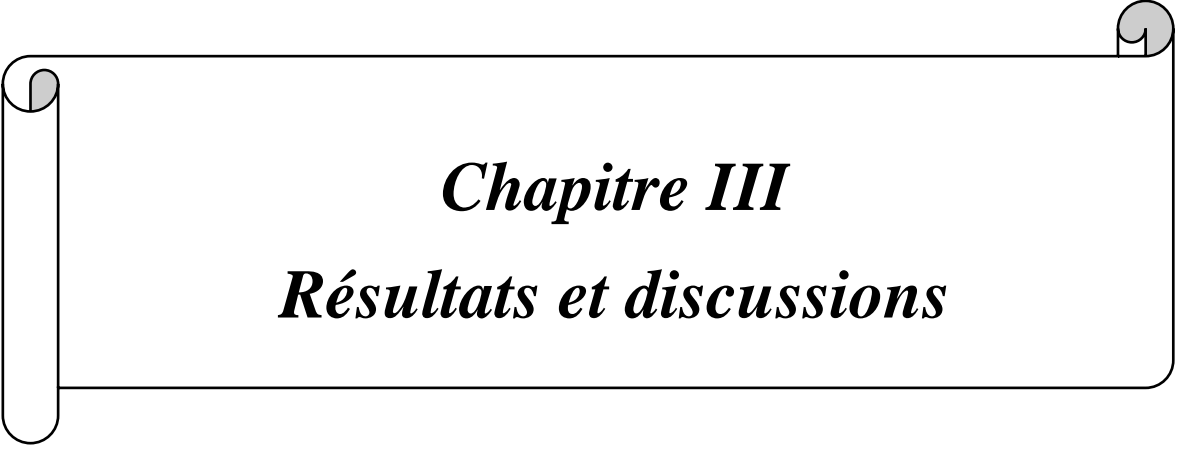
- Sécher de milieux à 37°C pendant 5 min.

C. La déposé des disques

- Des disques stérilisés de **6 mm** de diamètre découpés sur du papier Wattman, On a prélevé à l'aide d'une micro pipette l'extrait d'*A. mellea* et on a mouillé chaque disque (20 UL)
- Les disques mouillés de l'extrait est déposé dans les boîtes de pétri à côté de disques d'antifongique prélevé à l'aide d'une pipette pasteur à partir d'une souche pure (**figure 8**), qu'on laisse incuber à **37°C** pendant **6 jours**.
- Les diamètres d'inhibition sont mesurés autour de chaque disque contenant un extrait ou un antifongique de référence.



Figure. 8 : Test de l'activité antifongique par la méthode des disques (Origine, 2023).



Chapitre III
Résultats et discussions

III. 1. Extraction des acides gras

III. 1.1. Les caractères organoleptiques :

Les caractères organoleptiques du champignon *A. mellea* obtenues après l'extraction sont présentés dans le tableau suivant (tableau 5).

Tableau 5. Propriétés organoleptiques de l'extrait d'*A. mellea*.

Extrait	Couleur	Odeur	Aspect	Aspect après séchage à l'aire libre
<i>A. mellea</i>	Marron	Aucune odeur	Liquide	Gluante



Figure. 9: Extrait d'*A.mellea* (Origine, 2023).

III. 1.2. Le rendement de l'extrait

Dans notre étude, le rendement en acide gras d'*A.mellea* tenue par la technique de macération et de décantation est estimé à **66,7%** qui est un pourcentage élevé (tableau 5).

Chapitre III Résultats et discussions

Tableau 6. Rendement de l'extraits d'*A. mellea*.

Extrait	Poids végétal (g)	Poids de l'extrait (g)	Rendements de l'extrait %
<i>A.mellea</i>	20	13,34	66,7

Les résultats montrent un bon rendement en acides gras du champignon *A. mellea*. Il faut signaler que divers facteurs tels que l'espèce, la période de récolte, l'âge du champignon, la partie fongique soumise à la distillation, la technique d'extraction le degré de séchage, les conditions de séchage, la température et la durée de séchage peuvent influencer le rendement.

III. 2. Criblage phytochimique :

La caractérisation des métabolites chez *A. mellea*, a été réalisé par des réactions, basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composé. Les résultats de ce criblage sont présentés dans le **tableau 6**.

Tableau.7 : Résultats des tests phytochimique chez *A. mellea*.

Métabolites Espèces	<i>A. mellea</i>
Alcaloïdes	+
Composés réducteurs	+
Glycosides	+
Tannins	+
Flavonoïdes	+
Acides gras	+

- : Test négative ; + : Test positive.

Chapitre III Résultats et discussions

Les tests phytochimique, effectués sur le champignon *A. mellea*:

- *A. mellea* est très riche en alcaloïdes, avec une faible quantité de composés réducteurs.
- *A. mellea* contient une quantité considérable du glycoside.
- Les résultats de test phytochimique des tannins illustrent leur présence chez l'*A. mellea*,
- *A. mellea* est très riche en flavonoïdes et en acides gras.



Figure. 10 : Glycosides de l'*A. mellea* (Origine2023).



Figure. 11 : Acide Gras de l'*A. mellea* (Origine 2023).



Figure. 12 : Les composés réducteurs chez *A. mellea* (Origine 2023).

Notre étude phytochimique réalisée sur le champignon *A. mellea* a montré des résultats qui sont confirmés avec d'autres travaux, à savoir la présence de certaines familles chimiques. Par contre, on constate qu'il y a absence d'autres familles chimiques d'un champignon à l'autre, ceci peut être expliqué par une différence au niveau de plusieurs paramètres soient géographiques, physicochimiques ou biologiques tels que : la différence du site de récolte y compris l'environnement de la plante, la lumière, les précipitations, la topographie, la saison, type de sols, période de récolte, le patrimoine génétique, la partie de la plante étudiée ou leurs produits phytochimiques.

La présence des acides gras a été confirmée sur l'*A. mellea*, qui sont une source d'énergie importante et présente un rôle structural dans la composition de la membrane des cellules. Les acides gras sont nécessaires aux champignons puisqu'ils sont impliqués dans l'apport d'énergie à la cellule ; ils sont indispensables dans la synthèse des lipides qui peuvent être utilisés comme source d'énergie et de carbone. Les lipides peuvent également être combinés dans la nature avec d'autres composés tels que les protéines, les amino-acides ou les polysaccharides. Les acides gras et les triglycérides qu'ils contiennent sont généralement une grande fraction des lipides produits par les champignons (Nasraoui, 2008).

Wang Y *et al.*, (2013), ont trouvé quatre nouveaux alcaloïdes de structure et des spectres Ultra-Violet similaire qui ont été isolés à partir du bouillon de fermentation d'*A. mellea* en utilisant la chromatographie liquide Haute performance préparative. Quatre composés connus

ont également été isolés et leurs structures ont été déduites des données résonance magnétique nucléaire.

En outre **Chen et al., (2015)**, ont mis en évidence trois nouveaux esters aryliques sesquiterpéniques et huit composés connus ont été isolés à partir de l'extrait d'éthanol du mycélium de *A. mellea* ainsi que les activités cytotoxiques des composants isolés et leurs importances de détruire les cellules cancéreuses.

D'autres chercheurs ont révélé la présence de niveaux variables de composés bioactifs chez *A. mellea* par l'analyse phytochimique tel que : Les saponines, les protéines et les glucides ont été détectés aussi les glycosides, les alcaloïdes, les flavonoïdes et les tannins, La caractérisation chimique des extraits a été réalisée par la méthode de chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC). (**Petrovic et al.,2023**).

III. 3. L'activité antibactérienne :

Notre extrait fongique a été testé in vitro pour évaluer son activité antibactérienne et antifongique.

L'activité antimicrobienne contre les microorganismes dans la présente étude a été évaluée en fonction de la présence ou l'absence de zone d'inhibition et le **(DI)** par rapport au témoin. La méthode des disques de diffusion est une technique permettant d'avoir une idée préliminaire sur la capacité d'un extrait à inhiber la croissance microbienne. Les résultats révèlent que :

La présence des zones d'inhibition a été marquée par l'extrait d'*A. mellea* testé sur les bactéries *E. coli*, *Staphylococcus sp* et *Salmonella sp* avec des diamètres d'inhibitions de **12 mm, 4mm, 3,5mm** respectivement. Elle est marquée aussi par le témoin seulement sur la bactérie *Staphylococcus sp* avec un DI de **2 mm** et non pas avec les autres souches. Les différents organismes testés ont montré une sensibilité variable à l'extrait testé, le DI d'*E.coli* (**6mm**) indique la présence d'une activité antibactérienne.

Les *E. coli* qui sont résistantes à certains antibiotiques, peuvent être parfois inhibées par des composés extraits de plantes en raison de leurs propriétés biologiques. Parmi ces molécules bioactives et les flavonoïdes ont été particulièrement étudiés en raison de leurs effets bénéfiques en tant qu'antibactériens. En effet, plusieurs équipes de chercheurs ont démontré que certains

Chapitre III Résultats et discussions

flavonoïdes et extraits de plantes présentent une activité antibactérienne vis-à-vis d'*E. coli* (Tayeb *et al.*, 2016) (tableau.8).

Tableau 8: Effet de l'activité antibactérienne.

Extrait	Souche bactériennes testée	D.D (mm)
<i>A.mellea</i> (Acét.Ethyl)	<i>E.coli</i>	12
<i>A.mellea</i> (Acét.Ethyl)	<i>Staphylococcus sp</i>	4
<i>A.mellea</i> (Acét.Ethyl)	<i>Salmonella sp</i>	3,5

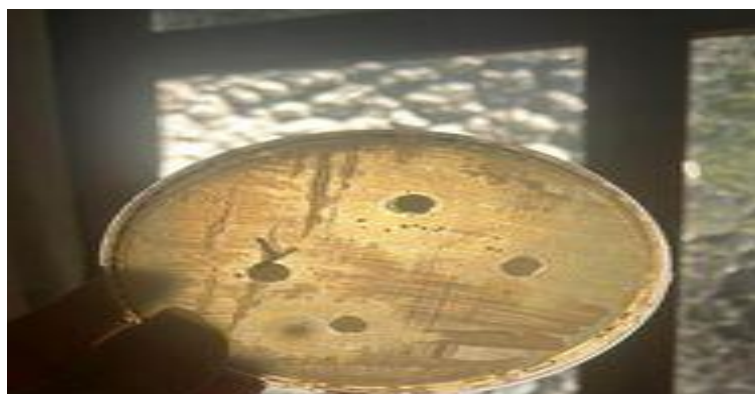


Figure 13 : *A. mellea* (Acét.Ethyl) testée sur la souche bactérienne *E. coli* (Origine 2023).



Figure 14 : *A. mellea* (Acét.Ethyl) testée sur la souche bactérienne *Staphylococcus sp* (Origine2023).



Figure 15 : *A. mellea* (Acét.Ethyl) testée sur la souche bactérienne *Salmonella sp* (Origine 2023).

Les composés naturels sont remarquables car les composés chimiques sont perçus comme incompatibles avec le corps humain c'est pourquoi la recherche de nouveaux composés bioactifs et naturels est devenue intéressante. Les résultats de la présente étude renforcent les résultats des travaux antérieurs réalisés par d'autres.

Kalu et al., (2022), ont montrées l'activités antimicrobiennes des extraits de corps de fruits d'*A. mellea* contre *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *B. cereus*. L'activité antimicrobienne de l'extrait de méthanol d'*A. mellea* sur les micro-organismes testés ; *S. aureus* était le plus sensible à l'extrait, suivi par *B. cereus*, *E. coli* n'étaient pas inhibés, même à la concentration la plus élevée et ils sont prouvées aussi que le micro-organisme pathogène, *P. aeruginosa*, qui est résistant aux antibiotiques synthétiques conventionnels comme la gentamicine, s'est avéré sensible aux extraits d'éthanol d'*A. mellea*.

Aytar et al., (2020), ont déterminés le potentiel antioxydant et antimicrobien de champignon comestible *A. mellea*. L'activité antioxydante a été détectée par la méthode de piégeage des radicaux libres. Le potentiel antimicrobien a été déterminé à l'aide d'une méthode de diffusion en milieu gélosé sur 14 micro-organismes. L'extrait de méthanol d'*A. mellea* s'est formé contre *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, 10±1 mm de diamètre de zone d'inhibition.

En outre les résultats de **(Subrata et al., 2012)**, ont montré que l'*A. mellea* et 30 champignons utilisés, après extraction par méthanol, présentent une large gamme d'activités antimicrobiennes, l'extrait d'*A. mellea* a été testée sur sept bactéries : *S. aureus*, *Cereus*, *E.*

Chapitre III Résultats et discussions

coli, *B. subtilis*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* parmi ces bactéries uniquement *S. aureus*, *Proteus vulgaris*, *E. coli*, indiquent une positive zone d'inhibition.

III.4. L'activité antifongique :

L'étude du pouvoir antifongique a révélé que l'extrait testé celle de l'*A. mellea* à montrer aucune inhibition sur la croissance d'*Aspergillus sp* et *Fusarium sp* (Tableau 8) par la méthode des disques ce qui prouve que l'extrait de l'*A. mellea* n'a aucune action inhibitrice sur les deux souches nommées ci-dessous. Avec la présence d'une contamination au niveau des boîtes (Figure 16).

Tableau 9 : Effet d'activités antifongique.

Extrait	Souches fongique testées	D.D (mm)
<i>A. mellea</i> (Acét.Ethyl)	<i>Aspergillus sp</i>	Pas d'inhibition
<i>A. mellea</i> (Acét.Ethyl)	<i>Fusarium sp</i>	Pas d'inhibition

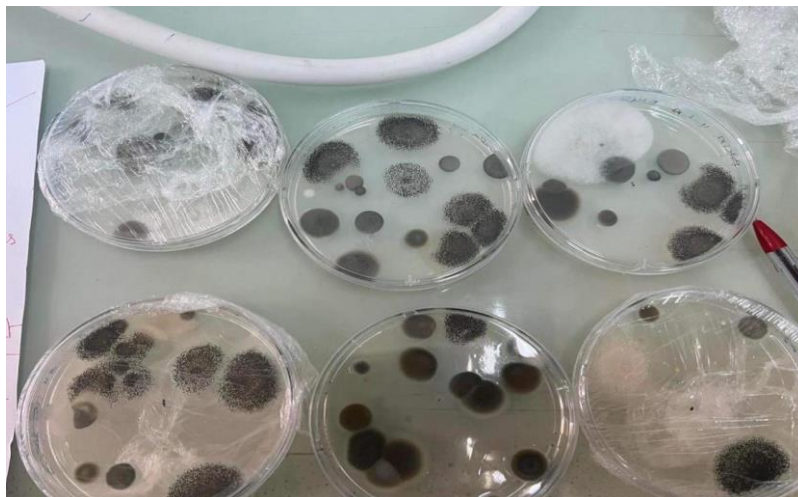


Figure 16 : *A. mellea* (Acét.Ethyl) testée sur les deux souches fongique *Aspergillus sp* et *Fusarium sp*.

Kalu *et al.*, (2023), ont montré que *A. mellea*, possède une activité antifongique prometteuse contre *C. albicans* et *C. glabrata*, qui sont plus sensibles à l'extrait aqueux d'*A. mellea*. Dans

Chapitre III Résultats et discussions

cette étude, une grande variété de champignons (Basidiomycètes) pousse sur le territoire mexicain, mais la plupart de leurs propriétés, y compris pharmacologiques, ont été étudiées, parmi ces champignons est l'*A. mellea*. L'activité antimicrobienne a été évaluée par la méthode de micro dilution contre *C. albicans*, et *S. schenki* et deux autres bactéries. Les résultats montrent que *A. mellea* présente une activité antimicrobienne contre *S. schenkii*.

Yamaç et al., (2006), ont étudié les activités antimicrobiennes des métabolites intracellulaires et/ou extracellulaires de certains champignons tels que l'*A. mellea*. Les activités antimicrobiennes de ces extraits de champignons ont été examinées sur les micro-organismes testés : *C. albicans* ATCC 10259 et *S. cerevisiae* NRRL-Y-2034 par les méthodes de diffusion sur disque et de micro dilution. Les résultats indiquent une activité exclusivement statique contre ces micro-organismes testés.

A decorative horizontal border with rounded ends and a scroll-like effect on the left and right sides, containing the text.

Conclusion et perspectives

Conclusion

L.A.mellea est une espèce très intéressante de champignons supérieurs; les tests phytochimiques de détection des métabolites secondaires de cette espèce ont élucidé la présence de ces métabolites tel que : flavonoïdes, tanins, alcaloïdes, stérols et une quantité significative d'acide gras.

Après l'extraction des acides gras, l'étude de l'activité antimicrobienne réalisée sur les souches : *E.coli*, *Salmonella sp*, *Staphylocoque sp*, *Fusarium sp* et *Aspergillus sp*, a montré que l'extrait d'*A.mellea* présente une activité antibactérienne sur *E.coli* testé.

En conclusion, l'*A.mellea* est un champignon riche en composés biochimiques (acides gras) et leur richesse en ces composés biologiquement actifs semble avoir un potentiel immense en tant qu'une source de composés antibactériens et antifongiques, ce qui permis de l'utiliser pour lutter contre diverses complications de santé, y compris les maladies infectieuses.



Références bibliographique

Références bibliographiques

1. **Abdallah, R., frikha, D., & sassi, S. M. E. S. (2019).** Evaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne et antifongique de quatre espèces algales marines. *Journal de l'Information Médicale de Sfax*, 38-44.
2. **Akre, d. S. T., n'douba, A. P., koffi, A. E., attemene, k. A., koko, A. C., & ackah, j. A. A. B. (2023).** Evaluation de l'activité antibactérienne de deux champignons supérieurs (*Daldinia concentrica* et *Volvariella volvacea*) sur la croissance des souches de *Escherichia coli* multi-résistantes isolées à Daloa, Côte d'Ivoire. *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*, 21(2), 116-124.
3. **Andriantsimahavandy, A. (2015).** *Étude des métabolites secondaires des bactéries isolées de la peau des grenouilles Mantella sp. (Mantella baroni et Mantella pulchra)* (Doctoral dissertation, UNIVERSITE D'ANTANANARIVO).
4. **Awad, G. (2005).** Caractérisation et étude de l'effet des sources de carbone et d'azote sur la production de nouveaux métabolites secondaires chez *Aspergillus ochraceus* non producteur de l'ochratoxine A (Doctoral dissertation).
5. **Aytar, E. C., Akata, İ., & Leyla, A. Ç. I. K. (2020).** Antioxidant and antimicrobial activities of *Armillaria mellea* and *Macrolepiota procera* extracts. *Mantar Dergisi*, 11(2), 121-128.
6. **Boutera, K., Hammoudi, I. (2016).** Etude extractive des alcaloïdes et évaluation de leur l'activité antimicrobienne du champignon *Pleurotus eryngii*. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master, Université des Frères Mentouri Constantine.p24.
7. **Bramki, M., Nekia, Abdessami. (2016).** Recherche des métabolites secondaires du champignon Algérien *Pleurotus eryngii* et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master, Université des Frères Mentouri Constantine. P20
8. **Burdsall, H. H., & Vol, T. J. (1993).** The state of taxonomy of the genus *Armillaria. McIlvainea*, 11(1), 4-12.
9. **Camprubi, A., Solari, J., Bonini, P., Garcia-figueres, F., Colosimo, F., Cirino, V., ... & Ccalvet, C. (2020).** Plant performance and metabolomics profile of loquat in response to mycorrhizal inoculation, *armillaria mellea* and their interaction. *Agronomy*, 10(6),2

Références bibliographiques

10. Chen, c. C., kuo, y. H., cheng, j. J., sung, p. J., ni, c. L., chen, c. C., & shen, c. C. (2015). Three new sesquiterpene aryl esters from the mycelium of *Armillaria mellea*. *Molecules*, 20(6), 9994-10003.
11. Coetzee, m. P., wingfield, b. D., harrington, t. C., steimel, j., coutinho, t. A., & wingfield, m. J. (2001). The root rot fungus *Armillaria mellea* introduced into South Africa by early Dutch settlers. *Molecular Ecology*, 10(2), 387-396.
12. Devkota, p., & hammerschmidt, r. (2020). The infection process of *Armillaria mellea* and *Armillaria solidipes*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 112, 101543.
13. El-Haoud, H., Boufellous, M., Berrani, A., Tazougart, H., & Bengueddour, R. (2018). Screening phytochimique d'une plante medicinale: *Mentha spicata L.* *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, 7, 226-233.
14. Gao, J. M., Yang, X., Wang, C. Y., & Liu, J. K. (2001). Armillaramide, a new sphingolipid from the fungus *Armillaria mellea*. *Fitoterapia*, 72(8), 858-864.
15. Hamadouch, Y., (2022). Mise en évidence des activités phyto-sanitaires et phyto-stimulatrices des extraits des basidiocarpes de quelques basidiomycètes. L'obtention du diplôme de doctorat du 3ème cycle LMD, Université Oran 1 Ahmed Benbella. P74, 78.
16. Humphreys, N., & Allen, E. (2002). Part II profiles of selected forest pests Insect pests, 103-105.
17. Kalu, A. U., Chinenye, O. A., Lydia, E. A., & Jude, O. U. (2022). *In vitro* antimicrobial activity of *Armillaria mellea* against pathogenic organisms. *Int J Biotech Microbial*, 4(1), 39-44.
18. King, O., Ward, M., Raney, D.E.J., Lab, j. (1954). Two simple media for the demonstration of pyo-cyanin and fluorescein. *Journal of laboratory and clinical medicine*, 44.
19. Kerharo J. et Adams J. G. (1974). La pharmacopée sénégalaise traditionnelle plantes médicinales et toxiques. *Edition Vigot et Frères*, Paris, 1011p.
20. Kostić, M., Smiljković, M., Petrović, J., Glamočlija, J., Barros, L., Ferreira, I. C., & Soković, M. (2017). Chemical, nutritive composition and a wide range of bioactive properties of honey mushroom *Armillaria mellea* (Vahl: Fr.) Kummer. *Food & function*, 8(9).
21. Mourad, B., Mihoub, Z. M., & Sétif, U. F. A. (2011). Etude de l'activité antioxydante ET antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris L.* Mémoire pour l'obtention du diplôme de Magister, Université Ferhat Abbes-Setif.

Références bibliographiques

22. Muszynska, B., Sulkowska-Ziaja, K., Wolkowska, M., & Ekiert, H. (2011). Chemical, pharmacological, and biological characterization of the culinary-medicinal honey mushroom, *Armillaria mellea* (Agaricomycetideae): a review. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 13(2).
23. Nasraoui, B. (2008). Principales maladies fongiques des céréales et des légumineuses en Tunisie. *Kef: Centre de Publication Universitaire*.
24. Nasraoui, B. (2018). Première Partie, Biologie.42
25. Ngai, P. H., Zhao, Z., & Ng, T. B. (2005). Agrocybin, an antifungal peptide from the edible mushroom *Agrocybe cylindracea*. *Peptides*, 26(2), 191-196.
26. Nierhaus-Wunderwald, D.; Engesser, R.; Rigling, D. (2012). L'armillaire - *Biologie et importance forestière*. 2e édition remaniée. Not. Part., 8.
27. Obuchi, T., Kondoh, H., Watanabe, N., Tamai, M., Imura, S., Jun-Shan, Y., & Xiao-Tian, L. (1990). Armillaric acid, a new antibiotic produced by *Armillaria mellea*. *Planta medica*, 56(02).
28. Paul, M ., David , W ., Stalpers , A . (2008). Taxonomy, nomenclature and description of *Armillaria mellea* .*dictionary of the fungi* (81).
29. Pogam, P., Chollet-Krugler, M., & Boustié, J. (2015). Présentation des métabolites secondaires lichéniques: de leur biosynthèse à leur rôle au sein du thalle lichénique. *Bull. Ass. fr. lichénologie*, 40.
30. Petrovic, N., Kosanic, M., Tosti, T., Srbljak, I., & Đurić, A. (2023). Chemical Characterization and Bioactive Properties of the Edible and Medicinal Honey Mushroom *Armillaria mellea* (Agaricomycetes) from Serbia. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 25.
31. Pohl, C. H., Kock, J. L., & Thibane, V. S. (2011). Antifungal free fatty acids: a review. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*, 3, 61.
32. Robert C Ulrich, James B Anderson 1978. *Experimental Mycology* 2 (2), 119-129.
33. Ross-Davis, A. L., Hanna, J. W., & Klopfenstein, N. B. (2011). DNA-based Identification and Phylogeny of North American *Armillaria* Species. In *Proc. West. Int. For. Dis. Work Conf.* (Vol. 58).
34. Sabiha, A. C. E. R., Yilmaz, E., & Karakaya, A. (2023). Ecological Factors Influencing the Occurrence of *Armillaria mellea* (Basidiomycota, Agaricales,

Références bibliographiques

- Physalacriaceae) in Yuvacik Dam Watershed in Kocaeli, Türkiye. *Mantar Dergisi*, 14(1), 10-21.
35. Sipos, G., Anderson, J. B., & Nagy, L. G. (2018). *Armillaria*. *Current Biology*, 28(7).
36. Stahl, P. D., & Klug, M. J. (1996). Characterization and differentiation of filamentous fungi based on fatty acid composition. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(11), 4136.
37. Tayeb-cherif, Y. M., Ghoribi, L., & Menacer, I. (2016). L'activité antibactérienne des huiles essentielles du *Rosmarinus officinalis* et de *Origanum vulgare* sur la bactérie *E. coli*.
38. Vu, T. H. (2014). Étude des acides gras du genre *Stereocaulon* et étude phytochimique du lichen *S. evolutum* Graewe (Doctoral dissertation, Université Rennes 1).27.
39. Wang, Y. C., Zhang, Y. W., Zheng, L. H., Bao, Y. L., Wu, Y., Yu, C. L., & Li, Y. X. (2013). Four new alkaloids from the fermentation broth of *Armillaria mellea*. *Helvetica Chimica Acta*, 96(2), 330-337.
40. Wilfrid KDD. Agbodjogbe, Judith F. Ahounou Aïkpe, Marc Abel Ayedoun, Fidèle M. traditionnel de l'hypertrophie de la prostate (HBP) .Thèse de pharmacie, Bamako. FMPOS, Bamako143p.
41. Yilmaz, N., Solmaz, M., Türkekul, İ. & Elmastaş, M. (2006). Fatty acid composition in some wild edible mushrooms growing in the middle Black Sea region of Turkey. *Food chemistry*, 99(1).
42. Zatout, R., &Chaouche, N. K. (2023).Antibacterial activity screening of an edible mushroom *Agaricus litoralis*. *Int. J. Bot. Stud*, 8, 49-52.
43. Zatout, R., Cimmino, A., Cherfia, R., & Chaouche, N. K. (2021). Isolation of tyrosol the main phytotoxic metabolite produced by the edible fungus *Agaricus litoralis*. *Egyptian Journal of Chemistry*, 64(10), 5741-5745.

Annexe 1 :

- **Grand matériel :**

Appareillage	Source
Réfrigérateur	LG
Balance de précision	KERN PCB
Bain marie	SEB SIMPLY ONE
Autoclave	AESULAP
Rota vapeur	
Agitateur magnétique avec plaque chauffante	MAGHETIC STIRRER WITZ HOT
Vortex	VWR
Etuve	NUVE

Tableau 10 : L'appareillage utilisé lors de notre étude

- **Petit matériel :**

- Boite pétri
- Pipette pasteur
- Entonnoir
- Bécher
- Anse métallique
- Micropipette
- Ampoule à décanter
- Ecouvillon
- Eppendorf

- **Solution et réactif :**

- Alcool (éthanol, méthanol)
- Eau distillée
- Eau oxygénée
- Chloroforme
- Acétate d'éthyle
- H₂SO₄
- Dragendorff

Annexe

- Liqueur de Fehling
- FeCl₃
- Magnésium
- Anhydride acétique
- Acide sulfurique

Les solutions et les réactifs sont fournis par le laboratoire de fin d'étude de l'Université Saad Dahleb Blida 1.

Annexe 2 :

Milieux de culture	Composants
Gélose nutritive (KINGE.,1954)	<ol style="list-style-type: none">1. Tryptone 20g/l2. Extrait de viande 1g/l3. Extrait de levure 2g/l4. Chlorure de sodium 5g/l5. Agar agar bactériologique 12g/l
PDA (RIPPONS J.,1988)	<ol style="list-style-type: none">1. Pomme De Terre Infusion A Partir De :200g/L2. Dextrose : 20g/L3. Agar : 15g/L4. Eau Distillée (D/W) :1L

Tableau 11 : La composition des milieux de cultures utilisés