

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme

Master en biologie

Option : agro-alimentaire et contrôle de qualité

Thème :

**Screening phytochimique et activités antioxydante des
extraits hydrométhanoliques de deux champignons
supérieurs dans la région de Tlemcen**

Présenté Par : BENKHEDDA Manel

AZZAOUI Amina

Soutenu le : 10/07/2021 , Devant le jury composé de :

Azzi Rachid PRESIDENT

Tefiani Choukri ENCADREUR

Benyoub Nour Eddine EXAMINATEUR

Remerciements

Louange à Allah, le miséricordieux, rien de tout cela ne pourrait arriver sans lui, je remercie le bon Dieu qui nous a conduit sur la route de la connaissance et la porte de la science.

Nous tenons à adresse nos plus vifs Remerciements à : Monsieur **tefiani choukri** maitre de conférence classe A au département d'agronomie, faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Abou Bekr Belkaid (Tlemcen), Pour nous avoir encadré, guidé et apporté toute l'aide dont nous avions besoin pour mener à bien nos travaux.

Nous Remerciements vont aussi aux membres de jury de nous avoir fait l'honneur de bien vouloir participer au jury de ce mémoire et pour toute l'attention qu'ils vont prêté à l'évaluation de notre travail.

Nous tenons remercier aussi Monsieur **Mimoun souna** Co-encadreur celui qui nous a aidé et soutenu nous a appris ce qu'il a pu nous apprendre nous n'oublierons jamais votre soutien.

Mademoiselle **Ghanemi Fatima Zohra** la responsable de notre promo, le bon être humain qui nous a toujours remonté le moral.

Monsieur **habiSalim** l'ingénieur de laboratoire microbiologie celui qui nous a très bien traité et a été très serviable et nous a aidé dans le détective, nous n'oublierons pas votre gentillesse.

Manel et Amina

Dédicace

Je dédie mon travail à :

*La lune de mes nuits et le soleil de mes jours, à celle qui m'a toujours soutenu : ma chère mère **Rachida** pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études, ainsi qu'à l'âme de mon père qui me manque profondément.*

*Mes chers frères **Youcef** et **Saad Eddine** pour leur appui et leur applaudissement. Je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité.*

*Mes adorables sœurs **Hadjer**, **Abir**, **Asmaa** et **Safaa** pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.*

*A mon chère fiancé **wassim** Et toute sa famille.*

*Mon binôme **Amina** et toute la famille **AZZAOUI**.*

*Ma d Et à toutes les familles: **BENKHEDDA**, **BOUABESSE**, **TEFLANI**, **MOSTEFAOUI** et **MAJDOUB**.*

Ma dédicace est également dédiée à tous les amis qui partagent le bon moment avec moi et ont de bons souvenir.

N'oubliez pas la promotion de mes collègues en 2020/2021, Master2 Agroalimentaire et contrôle qualité. Et tous les gens qui ont un jour compté dans ma vie.

MANEL

Dédicace

À l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

À la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère **Karima BENALI** qui m'apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.

À la source de ma volonté à mon chère père **Mohammed** qui m'appri le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses encouragements. Je ne cesserais jamais de remercier mon dieu pour m'avoir donnée une mère et un père comme vous. Puisse dieu vous protéger inshallah.

la joie et le bonheur de ma vie à mon chère fiancé **Riad SIDHOUM** « merci pour votre soutien et ta présence toujours à mes côtés ».

À mes chers frères et sœur : **Ismail, Khaled, Ahmed Yassine et Allae.**

À mon binôme : **Manel** et tous la famille **BENKHEDDA** ; et à toutes mes amies sans exception.

À toute la famille et tous ceux qui m'ont consacré temps, patience, et conseils surtout dans les moments difficiles.

À tous mes professeurs du primaire jusqu'au niveau universitaire.

Sans oublier mes collègues de la promotion **2020/2021, Master2 Agroalimentaire et contrôle de qualité.** Et tous ceux qui ont un jour compté dans ma vie.

AMINA



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Tlemcen
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers



Laboratoire de Physiologie, Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition (PPABIONUT)

Webinaire National sur

« Valorisation des matières résiduelles du secteur agro-alimentaire »

Samedi 26 Juin 2021

ATTESTATION DE COMMUNICATION

LA PRÉSIDENTE DU COMITÉ SCIENTIFIQUE ATTESTE QUE LA COMMUNICATION AFFICHÉE :

Intitulée : Screening phytochimique d'une souche locale de champignon comestible afin de valoriser des déchets agricoles et agroalimentaires

A été présentée par: **SOUNA Mimoune**

Co-auteurs: **TEFIANI C, AZZI R, CHAOUICHE M.T, HABI S, BENKHEDDA M, AZZAOUI A, SENOUSSAOUI R**

LA DOYENNE

Pr Mokhtari Nassima



LA PRÉSIDENTE DU COMITE SCIENTIFIQUE

MERZOUK H

ملخص

Suillus و *Pleurotus* هي فطريات صالحة للأكل تنتمي إلى Basidiomycetes تم جمعه في منطقة الغزوات (ولاية تلمسان) في شمال غرب الجزائر. يتم زراعتها بشكل متزايد لخصائصها الغذائية والطبية. المساحيق التي تم الحصول عليها بعد تجفيف وطحن النحات من السلالة المحلية من *Suillus* و *Pleurotus* تخضع للتعيين الميثانولي تحت نفس ظروف التشغيل. في ضوء هذه البيانات، اخترنا إجراء دراسة على المستقلبات الثانوية لجناح الجنبية و *Suillus*.

أظهرت النتائج وجود ترايثيربينز، قلويدات، فلافون، بوليفينول، جينين هيتيروسيدات. تحتوي أنواع *Suillus* و *Pleurotus* على إجمالي محتويات البوليفينول ($0.116 \pm$ / 0.007 ± 0.179 / 0.02 مغ EAG / غ MS) وإجمالي مركبات الفلافونويد ($0.006 \pm$ / 0.009 ± 0.793 / 0.015 مغ EAG / غ MS) على التوالي. بالنسبة لمجموع العفص، تكون التركيزات قليلة ولا تكاد تذكر. تم قياس النشاط المضاد للأكسدة باستخدام اختبار محاصرة DPPH، حيث تبلغ إمكانات مضادات الأكسدة 0.043 و 0.128 مغ/مل على التوالي بالنسبة إلى الجنبية و *Suillus*. هذا النشاط المضاد للأكسدة أكبر في *Suillus* منه في *Pleurotus* والذي قد يكون بسبب مستوى البوليفينول الكلي في *Suillus* منه في الجنبية

الكلمات المفتاحية: *Suillus*، *Pleurotus*، البوليفينول، نشاط مضادات الأكسدة.

Résumé

Pleurotus et *Suillus* sont des champignons comestibles appartenant aux Basidiomycètes récoltés dans la région de Ghazaouet (wilaya de Tlemcen) au nord-ouest d'Algérie. Ils sont de plus en plus cultivés pour ses vertus nutritives et médicinales. Les poudres obtenues après séchage et broyage des carpophores de la souche locale de *Pleurotus* et *Suillus* sont soumis à une macération hydrométhanoliques dans les mêmes conditions opératoires. À la lumière de ces données, nous avons choisi de réaliser une étude sur les métabolites secondaires du *Pleurotus* et *Suillus*. Les résultats ont montré la présence des triterpènes, les alcaloïdes, les flavones, les polyphénols et les hétérosides à génine. Les espèces *Pleurotus* et *Suillus* ont des teneurs en polyphénols totaux respectivement (0.116 ± 0.007 / 0.179 ± 0.02 mg EAG/g MS) et Flavonoïdes totaux ($0,006 + 0,009/0,793 \pm 0,015$ mg EAG/g MS). Pour les Tanins totaux, les concentrations sont minimales et négligeables. L'activité antioxydante a été mesurée à l'aide du test de piégeage du DPPH, le potentiel antioxydant est de 0,043 et 0,128 mg/ml respectivement pour *Pleurotus* et *Suillus* cette activité antioxydante est plus importante chez *Suillus* que chez *Pleurotus* qui peut être due au taux de polyphénols totaux élevé chez *Suillus* que chez *Pleurotus*.

Mots clés : *Pleurotus*, *Suillus*, polyphénols, activité antioxydante.

Abstract

Pleurotus and *Suillus* are edible mushrooms belonging to *Basidiomycetes* collected in the region of Ghazaouet (wilaya of Tlemcen) in north-western Algeria. They are increasingly cultivated for their nutritional and medicinal properties. The powders obtained after drying and grinding the carpophores of the local strain of *Pleurotus* and *Suillus* are subjected to hydromethanolic maceration under the same operating conditions. In the light of these data, we chose to carry out a study on the secondary metabolites of *Pleurotus* and *Suillus*. The results showed the presence of triterpenes, alkaloids, flavones, polyphenols and genine heterosides. *Pleurotus* and *Suillus* species have total polyphenol contents ($0.116 \pm 0.007 / 0.179 \pm 0.02$ mg EAG / g DM) and total flavonoids ($0.006 + 0.009 / 0.793 \pm 0.015$ mg EAG / g DM) respectively. For total tannins, the concentrations are minimal and negligible. The antioxidant activity was measured using the DPPH trapping test, the antioxidant potential is 0.043 and 0.128 mg / ml respectively for *Pleurotus* and *Suillus* this antioxidant activity is greater in *Suillus* than in *Pleurotus* which may be due to level of total polyphenols high in *Suillus* than in *Pleurotus*.

Key words: *Pleurotus*, *Suillus*, polyphenols, antioxidant activity.

Sommaire

Introduction générale.....	1
Chapitre I : Généralités sur les champignons	3
I.1. Définition	3
I.2. Diversité des champignons	3
I.3. Organisation taxonomique des champignons supérieurs	4
I.3.1. Ascomycètes	4
I.3.2. Basidiomycètes	5
I.4. Structure Générale.....	6
I.5.Reproduction.....	7
I.7.Modes de vie des champignons	8
I.7.1 Saprophytes.....	8
I.7.2 Parasites	8
I.7.3 Symbiotique	9
I.8 Description de quelques exemples de champignons forestiers des familles <i>Pleurotus</i> et <i>Suillus</i> 12	
I.8.1 <i>Pleurotus eryngii</i>	12
I.8.2 <i>Suillus mediterraneensis</i> (Jacque tant& J. Blum)	13
I.9-Intérêt écologique et rôle des champignons dans les écosystèmes forestiers	14
Chapitre II : les métabolites secondaires et les activités des champignons	15
II.1. Les métabolites secondaires	15
II.1.1. Définition.....	15
II.1.2. Classification des métabolites secondaires	15
II.2. Les activités biologiques des champignons	18
II.2.1. Activité antibactérienne	18
II.2.2. Activité antifongique	18
II.2.3. Activité antidiabétique.....	19
II.2.4. Activité anticancéreuse.....	19
II.2.5. Activité anti-inflammatoire.....	20
II.2.6. Activité antioxydante.....	20
Chapitre III : Matériel et méthodes	21
III.1. Etude phytochimique.....	21
III.1.1. Matériel et méthode utilisée.....	21
III.1.2. Matériel végétal	22

III.1.3. Préparation des extraits	22
III.1.4. Calcul du rendement des extraits.....	23
III.1.5. Criblage des métabolites secondaires.....	23
III.1.6. Tests phytochimiques.....	23
III.1. 7. Dosage des polyphénols.....	25
III.1. 8. Dosage des flavonoïdes (Flv)	25
III.1. 9. Dosage des tanins condensés.....	26
III.1.10. Dosage des sucres totaux.....	26
III.2. Activité anti radicalaire	27
Chapitre IV : Résultats et discussion.....	29
IV.1. Etude phytochimique	29
IV.1.1. Rendement d'extraction	29
IV.1.2. Test phytochimique.....	29
IV.1.3. Dosage des polyphénols totaux	30
IV.1. 4. Dosage des flavonoïdes.....	32
IV.1.5. Dosage des Tanins totaux.....	34
IV.1. 6. Dosage des sucres totaux.....	35
IV.2. Activité antioxydante	37
Conclusion.....	40
References bibliographiques	41
ANNEXE	49

Liste d'abréviation

C₆H₅OH :phenol

C₆C₁ : chorismate derived

KD : k-dimension

ATCC18804 : candida albicans (robin) berkhout

Nm : nanomètre

CMI₉₀ : la plus faible concentration inhibant, en 18à24heures la multiplication de 90%des bactéries

IG : indice glycémique

HOCL : acide hypochloreux

TNF α : facteur de nécrose tumole

GSH : glutathion

DPPH[°] : (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Flv : Flavonoïdes.

IC₅₀ : Concentration permettant d'inhiber 50% du radical DPPH.

μ g EC/mg MS : microgramme équivalent catéchine par milligramme de matière sèche.

UV : Ultraviolet.

FeCl₃ : Chlorure de fer.

H₂ SO₄ : Acide sulfurique.

HCL : Acide chlorhydrique.4

NaOH : Hydroxyde de sodium.

% : Pourcentage.

C[°] : Degré Celsius.

μ g : Microgramme.

l: Litre.

mg : Milligramme.

ml: Millilitre.

mm : Millimètre.

Liste des tableaux

Tableau 1: Activités biologiques des Métabolites secondaires	27
Tableau 2: regroupant les rendements des différents extraits.....	29
Tableau 3: Résultats des tests phytochimiques réalisés sur les extraits hydrométhanoliques de champignon pleurotus préparés par macération	29
Tableau 4: Résultats des tests phytochimiques réalisés sur les extraits hydrométhanoliques de champignon <i>Suillus Medeteranienies</i> préparés par macération.....	30

Liste des figures

Figure 1: Cycle de développement d'un champignon supérieur	6
Figure 2: Structure générale de champignons	7
Figure 3: Quelques exemples de champignons selon leur mode de vie.....	10
Figure 4: Principaux types des lichens.....	11
Figure 5: Exemplaires de <i>Pleurotus eryngii</i>	13
Figure 6: <i>Suillus mediterraneensis</i>	14
Figure 7: Buchi-R-210-Rotavapor-System	22
Figure 8: Forme libre et réduit de DPPH'	28
Figure 9: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux ...	31
Figure 10: Taux des polyphénols totaux de <i>Pleurotus</i> et <i>suillus</i>	31
Figure 11: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.....	32
Figure 12: Taux de flavonoïdes de <i>Pleurotus</i> et <i>Suillus</i>	33
Figure 13: Courbe d'étalonnage de l'acide tannique	34
Figure 14: Taux de Tanins totaux des <i>Pleurotus</i> et <i>Suillus</i>	34
Figure 15: courbe d'étalonnage du glucose pour le dosage des sucres totaux	35
Figure 16: Taux de sucres totaux de <i>Pleurotus</i> et <i>Suillus</i>	36
Figure 17: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH' en fonction des différentes concentrations de l'extrait de <i>Pleurotus</i>	37
Figure 18: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH• en fonction des différentes concentrations de l'extrait de <i>Suillus</i>	37
Figure 19: Valeurs d'IC ₅₀ de <i>Pleurotus</i>	38
Figure 20: Valeurs d'IC ₅₀ de <i>Suillus</i>	38



INTRODUCTION

Introduction générale

Le nombre estimé de champignons dans le monde est d'environ 140 000 dont 10%, seulement \approx 14 000 connus (Wasser, 2002). Les champignons sont un élément indispensable de la plupart des écosystèmes naturels et aident à redistribuer les ressources alimentaires utilisées par tous les êtres vivants de l'environnement. De nombreuses espèces de champignons s'intéressent à la nutrition et à la santé humaine (Badalyan, 2012). Plus de 2000 sortes de produits comestibles, près de 700 sortes de propriétés médicinales intéressantes (Wasser, 2002). Les champignons accumulent une variété de métabolites secondaires, y compris les phénols, les polycétols, les terpènes et les stéroïdes (Cheung et al., 2003). Les antioxydants présents dans les champignons sont très intéressants comme agent protecteur qui aide le corps humain à réduire les dommages oxydatifs sans aucune interférence. Ils sont reconnus comme aliment fonctionnel et source physiologique d'ingrédients bénéfiques (Wasser et Weis, 1999).

Les champignons affectent l'alimentation humaine depuis de nombreuses années en tant que source directe de nourriture ou de médicament. Ils sont considérés comme une riche source de nourriture en contenant beaucoup de protéines, de sucre, de glycogène, de graisse, de vitamines, d'acides aminés et de fibres brutes (Gbolagade, et al., 2006 ; Kalaè, 2009).

Les vertus médicinales des champignons ont été reconnues partout dans le monde (Cochran, 1978), et plusieurs composés ont été isolés du champignon possédant une activité médicinales (Karaman et al., 2003 ; Acharya, 2007).

Les champignons comestibles sont très riches en nutriments comme ils peuvent être utilisés comme médicaments pour le traitement de pas mal de maladies dont parmi on cite le cancer, des maladies cardiaques, du diabète, de l'inflammation, des lésions hépatiques, de l'hypertension artérielle, etc. (Chang, 1996 ; Biswas et al, 2011), Les champignons sont également l'un des meilleures sources d'autres nutriments essentiels dans l'alimentation humaine. Cette valeur peut être comparable à celle de la viande, des œufs et du lait (Breene, 1990 ; Gruenet Wong, 1982).

Le but de ce travail est de mener des recherches phytochimiques basées sur des tests quantitatifs des composés phytochimiques et le dosage des polyphénols, flavonoïdes, des tanins condensés et les sucres totaux, de l'extrait hydrométhanolique de *Pleurotus* et *Suillus*, récolté dans la région de Ghazaouet wilaya de Tlemcen, et une étude biologique basée sur la recherche d'activité antioxydante.

Le mémoire est divisé en deux parties :

- Une synthèse bibliographique présentée dans le chapitre I portant sur généralités sur les champignons, chapitre II et portant sur les métabolites secondaires et les activités des champignons
- Une partie expérimentale divisée en deux chapitres numérotés III et IV.
 - Dans le chapitre III, nous présenterons le matériel et les méthodes d'étude que nous avons utilisée.
 - Dans le chapitre IV nous présenterons et discuterons les résultats obtenus.



Chapitre I : Généralités sur les champignons

I.1. Définition

Les champignons ou mycètes (du latin fungus, et du grec sphongos = éponge) sont classés dans le royaume des champignons (**Lemoine et Claustres, 2002 ; Lüttge et al., 2002 ; Gupta, 2004 ; Bouchet et al., 2005 ; Breuil, 2009 ; Raven et al., 2011 ; Falandysz et Borovička, 2013**). Ce sont des eucaryotes, caractérisés par une paroi cellulaire qui contient de la chitine composée de résidus N-acétylglucosamine et qui est un polysaccharide principalement présent chez les insectes (**Lemoine et Claustres, 2002 ; Breuil, 2009**). Leurs organes végétatifs sont composés de filaments ou hyphes, et leur reproduction est soit sexuée et/ou asexuée (**Alexopoulos et al. 1996 ; Lüttge et al. 2002 ; Breuil, 2009**).

Les champignons sont métaboliquement hétérotrophes et se nourrissent en absorbant la matière organique produite par d'autres organismes autotrophes. Ils sécrètent des enzymes dans le milieu de culture et ces enzymes digèrent divers composés organiques et les décomposent en petites molécules solubles. Ils se propagent à travers la paroi mycélienne (**Carlile et Watkinson, 1994 ; Alexopoulos et al. 1996 ; Redecker, 2002 ; Gupta, 2004**). La plupart des champignons sont des organismes aérobies (**Carlile et Watkinson, 1994**).

Les champignons peuvent être subdivisés en champignons inférieurs et champignons supérieurs. Les champignons inférieurs sont unicellulaires et constituent un groupe hétérogène. Les champignons supérieurs sont divisés en deux groupes : les ascomycètes et les basidiomycètes (**Davet, 1996 ; Burac, 2006 ; Thaung, 2007**).

I.2. Diversité des champignons

Dans un endroit donné, il peut exister en principe de 6 à 8 fois plus de types de champignons que de plantes (**knudsen et petersen, 2005**). On estime qu'il existe environ 250 000 espèces de plantes dans le monde, il devrait donc y avoir 105 millions d'espèces de champignons, ce qui est loin des observations actuelles. Une explication peut être que la gamme des champignons est généralement plus large que celle des plantes (**knudsen et petersen 2005**). Les champignons se développent avec les plantes et au fil du temps, ils utilisent différentes parties de plantes exclusivement par décomposition ou échange symbiotique (**knudsen et petersen 2005**).

I.3. Organisation taxonomique des champignons supérieurs

I.3.1. Ascomycètes

Il existe 45 000 espèces d'ascomycètes, et environ 75 % d'entre elles sont connues (**Hawksworth, 2001 ; Hibbett et al, 2007**) ; ils constituent presque tous les champignons capables de former des combinaisons de lichens. Les ascomycètes comprennent de nombreux champignons en forme de coupe (Pezizes), ainsi que d'autres champignons économiquement importants, tels que les morilles et les truffes. Certaines toxines produites par les ascomycètes peuvent contaminer les aliments (mycotoxines) ou provoquer des maladies pulmonaires, comme la coccidioïdomycose (coccidioïdomycose, *Aspergillus*) ou des maladies de la peau (dermatophytes). Par conséquent, cela affecte le nombre de plantes. Les maladies, comme l'oïdium, sont causées par ascomycètes (**Breuil, 2009; Clesse, 2011; Raven et al, 2011**).

Reproduction asexuée et sexuée des ascomycètes

- Leur reproduction asexuée est assurée par des spores haploïdes (conidies), qui se forment aux extrémités d'hyphes modifiés appelés « conidiophores ». Les conidies permettent une colonisation rapide de nouvelles sources de nourriture, elles sont généralement multinucléées (**Lüttge et al, 2002 ; Breuil, 2009 ; Ravenet al, 2011**).

- Leur reproduction sexuée se produit dans l'asque et est déclenchée dans des conditions environnementales spécifiques (**Figure 1a**). Les hyphes de polarités opposées sont proches les uns des autres, et chaque type produit une grande cellule multinucléée terminale (gamétophyte). Les deux gamétophytes (antheridium / ascogon ~) fusionnent par la trichinelle (organe récepteur tubulaire femelle) et rejoignent l'ascosome par le noyau du bulbe à fleur de la trichinelle, tandis que le noyau de type hétérosexuel est combiné par deux. L'ascogonium produit des hyphes binucléés en forme de septum qui est incorporés dans une structure complexe appelée enveloppe d'asque. Les cellules à l'extrémité des hyphes binucléées gonflent et forment une structure d'asque. La caryogamie se produit dans l'asque, puis le noyau des cellules diploïdes subit une méiose, puis une mitose, et enfin 8 noyaux de cellules haploïdes sont produits. Ces noyaux sont incorporés dans des ascospores qui sont généralement disposées en rangée (**Lüttge et al, 2002; Breuil, 2009; Ravenet al, 2011**).

I.3.2. Basidiomycètes

Les Basidiomycète regroupent 22 000 espèces décrites (**Raven et al. 2011**). Les macros basidiomycètes comprennent les champignons comestibles ou vénéneux, les champignons saprophytes ou symbiotiques végétaux (exomycorhizes). Ils comprennent également les champignons phytopathogènes, tels que les champignons qui causent la rouille et le charbon (**Breuil, 2009**).

Ils se reproduisent généralement par voie sexuée (**Figure 1b**). En fait, dans la plupart des champignons de la coiffe des basidiomycètes, les spores haploïdes germent et forment un mycélium homocaryotique. Ces mycéliums de différents types de sexe s'attirent puis fusionnent (gamètes cytoplasmiques) pour former des hyphes binaires. Ces hyphes se développent et se ramifient pour former un mycélium qui se développe dans le sol, et finalement forment des fructifications fongiques appelées « sporophytes » ou « basidiomycètes ». Dans les cellules en forme de bâtonnet de l'amas de spores, un hyphe bi nucléaire "basidiomycète" est finalement formé. Dans la base, le noyau haploïde fusionne avec le "noyau correspondant" pour produire un noyau diploïde, et le noyau diploïde subit une méiose pour produire 4 noyaux haploïdes. Quatre noyaux haploïdes sont incorporés dans les basidiomycètes. Dans la plupart des cas, les basidiomycètes naissent sur de petites protubérances appelées « sterigmas » à l'extrémité des basidiomycètes (**Breuil, 2009 ; Clesse, 2011 ; Raven et al, 2011**).

Le mycélium dicaryotique des Basidiomycètes se développe dans toutes les directions à partir de la zone des gamètes cytoplasmiques, et forme un cercle fongique appelé « anneau de sorcière » à la périphérie de la croissance.

- De nombreux champignons basidiomycètes ne se reproduisent pas de manière asexuée, bien que certaines espèces produisent des spores asexuées (conidies) (**Lüttge et al., 2002 ; Raven et al., 2011**).

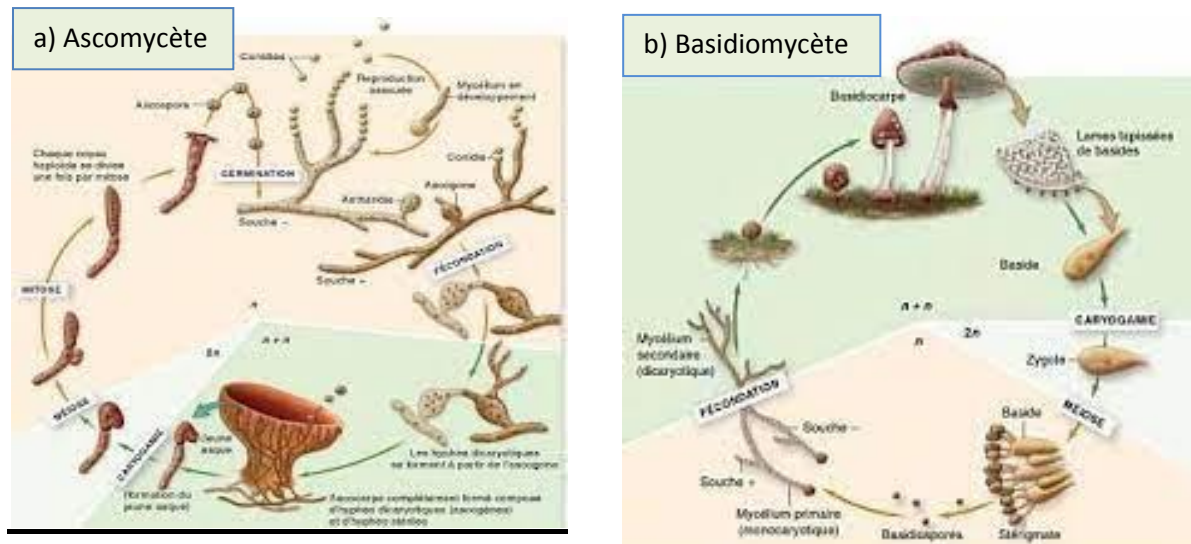


Figure 1: Cycle de développement d'un champignon supérieur (Raven et al, 2011):

I.4. Structure Générale

Au microscope, les champignons sont composés d'hyphes et les éléments filamenteux sont composés de cellules longues, continues ou ramifiées. Ces cellules sont séparées les unes des autres par une membrane, qui est une forme de barrière et contient généralement un pore qui permet le passage du cytoplasme. Le mycélium représente l'ensemble du réseau hyphes d'un seul champignon et peut être trouvé sous terre. Le champignon forestier que l'on peut observer au sol est en fait le fruit du champignon, c'est-à-dire le sporophyte (ou corps poreux) qui contient les spores prêtes à être libérées dans l'environnement. Chaque cellule hyphale peut contenir un noyau (mono noyau), deux noyaux (noyaux doubles), voire plus, ce qui les distingue des cellules animales et végétales. La paroi cellulaire des champignons est composée d'une variété de polysaccharides, dont la chitine, qui sont également présents dans l'exosquelette des arthropodes. On peut aussi trouver des glucosylglycoprotéines, des lipides, des glucanes ainsi que des glucides comme le mannose, le tréhalose et le galactose (**Ripert 2013**)

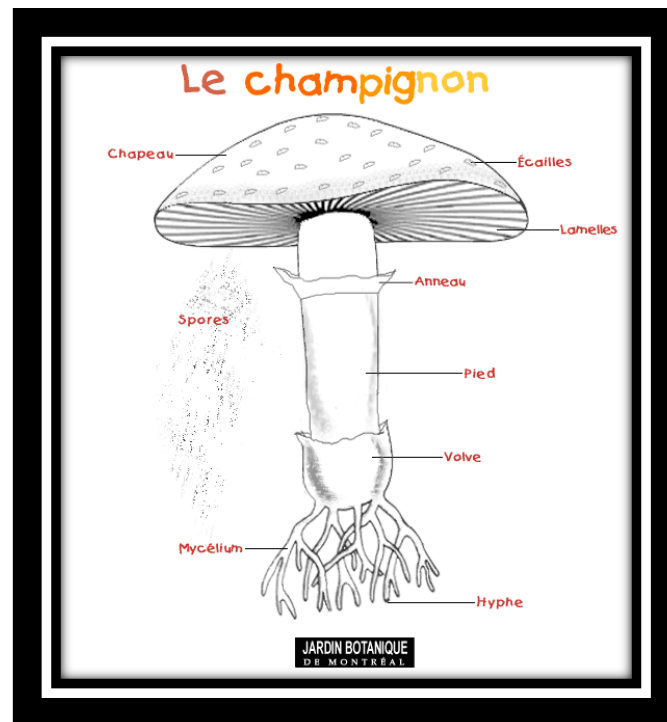


Figure 2: Structure générale de champignons (site 1)

I.5.Reproduction

Les hyphes se développent à partir de la fin et se produisent rapidement. La méthode de division cellulaire des champignons est différente de celle utilisée par les animaux et les plantes. En particulier, la membrane nucléaire persiste tout au long de la mitose, plutôt que de se dissoudre et de se réorganiser. La formation du fuseau mitotique se produit à l'intérieur de l'enveloppe plutôt que dans le cytoplasme. De plus, le champignon ne forme pas les centrioles des microtubules, mais ce qu'on appelle des plaques (**Raven 2002**).

Les champignons peuvent se reproduire sexuellement ou asexuellement. Dans la reproduction sexuée, deux hyphes haploïdes d'individus différents se combinent pour former des hyphes diploïdes en raison de la fusion de deux noyaux. La reproduction asexuée se produit par la fragmentation des hyphes du mycélium. Les spores sont le principal moyen de reproduction. Ils sont le produit de la méiose qui se produit dans la fosse de la région de l'hymen. Les spores peuvent être transportées sous de nombreuses formes ; elles sont généralement transportées par le vent, mais certaines sont collantes et peuvent s'attacher aux arthropodes et à d'autres organismes pouvant servir de porteurs. Une méthode pour pousser les spores dans l'air après que le renflement sous les sporanges (l'organe qui produit les spores) soit déchiré en raison de l'augmentation de la pression de gonflage (**Raven, 2002**).

I.7. Modes de vie des champignons

Les champignons sont des organismes hétérotrophes et se répartissent en 3 catégories selon leur mode de nutrition : les parasites, les symbiotiques et les saprophytes (**Fig.3**).

I.7.1 Saprophytes

Les champignons saprophytes se nourrissent de matière organique morte dérivée de plantes (feuilles et restes de plantes) ou d'animaux (carcasses), et ils représentent la plupart des grands champignons (**Senn-Irlet et al. 2012**) (**Fig. 3a**). Selon le substrat qu'ils décomposent, il existe plusieurs types de champignons saprophytes : les saprophytes (décompose la matière organique du sol), la lignine (décompose la matière organique dans le bois mort), les saprophytes de litière (décompose les feuilles mortes, les branches et autres plantes), herbe (sur l'herbe), champignon (sur d'autres champignons) et enfin champignon fécal (vivant sur les excréments) (**Moreau et al. 2002**).

La décomposition du bois mort et des débris végétaux implique une série d'espèces saprophytes qui dégradent spécifiquement les glucides et les glucides facilement hydrolysés, la cellulose, l'hémicellulose et la lignine. Cette spécificité est principalement due aux propriétés biochimiques des enzymes qu'elles peuvent synthétiser (**Durrieu, 1993 ; Lutzoni et al. 2004**).

I.7.2 Parasites

Les champignons parasites se nourrissent d'animaux ou de plantes vivants (**fig 3b**). Environ 20 % des espèces fongiques connues peuvent être parasites. Selon les différents substrats parasitaires, il existe une différence entre les parasites végétatifs biologiques qui vivent sur des organismes vivants et les parasites végétatifs nécrotiques qui survivent sous forme de saprophytes après la mort de l'hôte parasite (**Sicard et Lamoureux, 2006**).

Chez certains champignons, il est parfois difficile de faire la distinction entre saprophytes et parasites car ils mènent deux modes de vie. C'est le cas du *Polyporus pyreus* et du miel d'*Armillaria*, qui peuvent être parasites de la partie vivante de l'arbre et qui peut continuer ensuite à vivre sur les arbres morts en tant que saprophytes. Certains champignons parasites sont responsables de diverses pathologies de l'homme, des plantes, des animaux, et même des champignons (**Moreau et al, 2002 ; Lutzoni et al, 2004 ; Senn-Irlet et al, 2012**).

I.7.3 Symbiotique

Les champignons communistes ou symbiotiques établissent des associations à bénéfice réciproque avec d'autres organismes qui peuvent être soit des végétaux supérieurs (mycorhizes), des insectes (termites) (**Es-senia, 2014**)

A. Mycorhizes

La symbiose mycorhizienne est la symbiose la plus répandue dans le monde des champignons (**Smith et Read, 1997 ; 2008**). La relation établie entre les champignons et les racines des plantes supérieures joue un rôle important dans la dynamique et la survie des écosystèmes forestiers (**Fig. 3c**). A titre illustratif, le champignon favorise la nutrition hydrique et minérale de la plante, qui à son tour favorise le métabolisme du carbone du champignon et le protège physiquement (**Smith et Read, 2008 ; Senn-Irlet et al, 2012**).

Les champignons mycorhiziens sont très sensibles aux pluies acides, aux pratiques de reboisement, aux traitements chimiques, au compactage des sols, à la mécanisation et les engrais minéraux les font disparaître (**Courtecuisse, 2000**).

B. Champignons associés aux termites

Les termites sont des insectes sociaux, divisés en castes fonctionnelles distinctes (ouvriers, soldats et éleveurs) et se nourrissent de diverses matières celluloses (**Uva, 2002 ; Zaremski et al, 2009**).

Selon leur régime alimentaire, on distingue les termites xylophages, les termites charognards et les termites fongiques. Ce dernier a la particularité d'établir une relation symbiotique avec les basidiomycètes supérieurs du genre *Termitomyces* (**Rouland-Lefevre et Bignell, 2001 ; Rouland- Lefevre et al., 2006 ; Zaremski et al., 2009 ; Lefebvre, 2008 ; Eggleton, 2011**). Les termites champignons appartiennent à la sous-famille des Macrotermitinae et sont particulièrement abondants dans les écosystèmes africains et asiatiques (**Eggleton, 2000 ; Bignell, 2006**). Ils mâchent et avalent des fragments de plantes, puis les expulsent par l'anus assez rapidement (contrairement aux autres termites qui digèrent la cellulose et la lignine). Ensuite, ces fausses matières fécales sont emballées dans de petites structures spongieuses de la taille d'une tomate appelées "roues de champignons" sur lesquelles le mycélium fongique se développera. Ce dernier décompose progressivement la cellulose et la lignine en molécules plus simples et produit un compost fongique assimilable par les termites (**Bignell, 2006 ; Rouland-Lefevre et al., 2006 ; Guedegbe, 2008 ; Zaremski**

et al., 2009 ;). Cette relation symbiotique favorise le développement de *Termitomyces* (Fadel, 2008) et leurs carpophores en saison des pluies (Bignell, 2006 ; Rouland-Lefevre et al., 2006 ; Guedegbe, 2008) (Fig. 3d) La hauteur des termitières peut atteindre 6 m et le diamètre peut atteindre 3 m. Leur forme et leur structure interne sont très compliquées. (Dubois et Seignobos, 2005 ; Nabors, 2008 ; Guedegbe, 2008).



Figure 3: Quelques exemples de champignons selon leur mode de vie.

(a) : *Hypholome doux* (*Hypholomacarpnoides*) espèce saprophyte fructifiant en troupes denses sur les vieilles d'arbres (Sicard et Lamoureux, 2006). (b) : *Polypore allume-feu* (forme *fomentarius*), espèce parasite d'arbres (Sicard et Lamoureux, 2006). (c) : Fructification d'une souche japonaise de *Rhizopogon roseolus* sous *Pinus radiata*, Nouvelle-Zélande (Wang et al., 2012). (d) : *Termitomyces striatus* en association obligatoire avec les termites sur une termitière épigée (EyiNdong et al., 2011).

C.Lichens

Le lichen est une association entre des champignons (organismes ramifiés) et des algues ou des cyanobactéries (le photobionte) (Moreau *et al*, 2002 ; Vust *et Arx*, 2006), 23 espèces d'algues et 15 espèces de cyanobactéries forment des lichens (Lüttge, 2002 ; Fortin, 2006). Environ 98 % des champignons lichens sont des ascomycètes ; les 2 % restants sont des basidiomycètes (Nabors, 2008).

Grâce à la chlorophylle, les algues fournissent la matière organique nécessaire au couple, et le champignon fournit de l'eau et des sels minéraux au couple. Il existe 13500 à 30000 espèces de lichens (Nabors, 2008). Le corps des lichens est appelé thalle. Les champignons constituent la majeure partie de ce corps, mais entre leurs filaments se trouvent des cyanobactéries, des algues et parfois les deux. Des filaments spéciaux pénètrent ou enveloppent les cellules photosynthétiques et fournissent des nutriments directement au champignon. Ces derniers ne peuvent se développer normalement sans partenaire photosynthétique, et ils les protègent de la forte lumière et de la sécheresse. Par conséquent, le lichen est une association obligatoire (A. F. L., 2011 ; Raven *et al.*, 2011).

Selon la forme de ses frondes, les lichens peuvent être divisés en trois types principaux : les lichens crustacés, les lichens foliaires et les lichens fruitiers. Le lichen peut être utilisé comme plante pionnière pour coloniser dans des environnements extrêmes (haute tolérance à la déshydratation par le froid et la chaleur) (Bricaud, 2006 ; A. F. L., 2011) : Colonisez les déserts arides, les rochers alpins jusqu'à 7300 mètres au-dessus du niveau de la mer et la toundra antarctique et arctique (Lüttge, 2002). On les trouve également dans les troncs des forêts humides et des sols forestiers (Nabors, 2008).



Figure 4: Principaux types des lichens (A. F. L., 2011). (a): Lichens crustacés *Aspicilia radiosa* forment une croute qui colle fortement à son substrat, (b) : Lichen foliaire *Xanthoria parietina*, frondes en forme de feuilles ou de feuilles, adhérent rarement aux supports et se séparent facilement. (c) : Lichen ressemblant à des fruits *Teloschistesflavica*, apparition de petits arbres attachés par de petits points de contact.

Les lichens sont sensibles à la pollution atmosphérique (SO₂), ils sont donc utilisés comme indicateur biologique de pollution. Ils ont la capacité de stocker des composés minéraux, des polluants, et leur accumulation peut déterminer la source de pollution afin qu'ils puissent être considérés pour l'amélioration (Lüttge, 2002 ; Bricaud, 2006 ; Nabors, 2008 ; A. F. L., 2011 ; Raven et al, 2011). Le lichen peut améliorer la fertilité du sol en fixant l'azote par les cyanobactéries. De nombreux types de lichens sont mangés par les animaux et même les humains en Asie, en Europe et en Amérique du Nord. D'autres sont utilisés pour fabriquer des cosmétiques (parfums, colorants) et des médicaments (antibiotiques et anti-inflammatoires) (Lüttge, 2002 ; Fortin, 2006 ; Nabors, 2008 ; A. F. L., 2011).

I.8 Description de quelques exemples de champignons forestiers des familles *Pleurotus* et *Suillus*

I.8.1 *Pleurotus eryngii*

Pleurotus eryngii est un champignon comestible largement cultivé. La teneur en eau est d'environ 90% de champignons frais. Il appartient au genre pleurotes, et il se trouve qu'il est le plus important de cette famille. Il a un petit capuchon, mais sa tige est épaisse et charnue. Une fois récoltés, les champignons ne se détérioreront pas rapidement. C'est un champignon riche en nutriments, notamment des glucides, des protéines, des vitamines, des minéraux et des fibres. Cela ressemble beaucoup à une alimentation équilibrée, les champignons garderont certainement les gens en bonne santé (site 2).

❖ Caractéristiques de *Pleurotus eryngii*

Pleurotus eryngii est reconnu par :

Chapeau : 4 à 12 cm, gris-brun à brun clair, pâle avec l'âge, légèrement duveteux au début, mais rapidement glabre et lisse.

La surface convexe s'étend ensuite vers le bas au centre. Irrégulier, assez charnu et épais. La marge est enroulée, presque toujours face vers le bas. Flocons : de couleur blanchâtre et gris clair ou ocre. Très doux, assez espacé et large. Pieds : 3 à 10 cm. Blanc, généralement un peu excentrique et fusiforme, plein, fort et ferme. Pulpe : blanche, ferme et épaisse. L'odeur est faible mais agréable et le goût est doux. Spores : blanches. Période de cueillette : à partir du milieu du printemps, si la température n'est pas trop basse, puis retour à la fin de l'automne (figure 05) (Bramki et Nekia, 2016)



Figure 5: Exemples de *Pleurotus eryngii*. (Site 3)

I.8.2 *Suillus mediterraneensis* (Jacque tant& J. Blum)

Le nom français de *Suillus mediterraneensis* (Jacque tant& J. Blum) est bolet méditerranéen et on le retrouve sous pins, surtout sous *Pinushalepensis*. Son chapeau est jaune terne, rapidement brun orangé à orangé cuivré par plages. Ses pores sont jaune olivâtres. Son stipe est blanc ponctué de taches brunes et sont plus nombreuses dans la moitié supérieure. La chair du bolet méditerranéen est jaune dans le chapeau et le bas du stipe, puis sur toute la longueur à maturité. Son mycélium est rose, parfois peu évident à déceler. Ses spores sont de taille de 9-12 x 4-5 μm . Le bolet méditerranéen est à comparer surtout avec *S. collinitus* qui possède également une chair jaune et le mycélium rose, son chapeau est plus sombre et nettement vergeté. Ce bolet peut être résumé comme étant une mixture de trois autres bolets (**Redeuilh 1992**).



Figure 6: *Suillus mediterraneensis* (site 4)

I.9-Intérêt écologique et rôle des champignons dans les écosystèmes forestiers

Les champignons jouent un rôle très important dans les écosystèmes forestiers. Les saprophytes décomposent la matière organique en éléments pouvant être absorbés par les arbres ; les parasites tuent les individus faibles ou malades, et les symbiotes sont bénéfiques pour leurs plantes hôtes (Lüttge et al, 2002 ; Jacob, 2005 ; Senn-Irlet et al, 2012).

Au sol, les filaments fongiques constituent une source de nourriture pour de nombreux micro-organismes (insectes, nématodes, vers de terre, etc.). Les corps de fruits peuvent également être utilisés comme nourriture pour les mammifères, les escargots et de nombreux insectes et vers. (Senn-Irlet et al., 2012).

En plus, les champignons sont considérés comme un indicateur biologique de la santé des écosystèmes naturels (Courtecuisse, 2000 ; Moreau et al, 2002).

Chapitre II : les métabolites secondaires et les activités des champignons

II.1. Les métabolites secondaires

II.1.1. Définition

Les métabolites secondaires ne sont généralement pas considérés comme nécessaires à la vie végétale. Ils sont biosynthétisés à partir des métabolites primaires et jouent un rôle important dans l'interaction entre les plantes et leur environnement, contribuant ainsi à la survie des organismes dans leurs écosystèmes. Jusqu'à présent, plus de 8 500 métabolites secondaires sont connus à échelle mondiale (**Boudjerda, 2013**).

II.1.2. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires qui sont classés selon leur structure chimique en quatre groupes majeurs.

II.1.2.1. Les composés phénoliques

Les résines phénoliques sont une grande classe de substances organiques cycliques avec de multiples sources secondaires, qui sont dérivées du phénol C_6H_5OH , qui est un monohydroxybenzène.

Les composés phénoliques sont très répandus dans le règne végétal. On les trouve dans les racines, les feuilles, les fruits et l'écorce. La couleur et l'arôme ou l'astringence des plantes dépendent de la concentration et de la conversion des phénols. Dans la nature, ces composés sont généralement à l'état combiné sous forme d'esters ou plus généralement sous forme d'hétéros glycosides. Ils existent également sous forme de polymères naturels (tanins). Les phénols les plus gros et les plus répandus sont les flavonoïdes (**Walton et Brown, 1999**).

a. Les acides phénoliques simples (C6-C1 ou C6-C3)

L'acide phénolique est l'une des formes les plus simples de composés phénoliques, divisée en deux catégories, à savoir l'acide hydroxybenzoïque et l'acide hydroxycinnamique. (**Lamartiet *al.*, 1994**).

La coumarine est un composé dérivée de l'acide hydroxycinnamique par cyclisation de la chaîne latérale interne. La coumarine a généralement des effets écologiques ou biologiques (**Crozier et *al.*, 2006**).

II.1.2.1.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des substances phénoliques qui représentent une grande classe de métabolisme secondaire. Leur structure se compose de deux cycles aromatiques (A et B) reliés par trois chaînes carbonées, généralement organisés en un cycle hétérocyclique contenant de l'oxygène (Karabinet *al*, 2015).

Il existe plus de 5 000 espèces de flavonoïdes identifiées, qui peuvent être classées selon leur structure et leur degré de substitution et d'oxydation (Yao *et al*, 2004). Les principaux flavonoïdes sont généralement divisés en six sous-catégories : flavonoïdes, flavonols, flavan-3-ols, flavanones, isoflavones et anthocyanes (Karabinet *al*, 2015).

II.1.2.1.3. Les tanins

Ils sont définis comme des composés hydrosolubles (polymères) polyphénoliques de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 KD, qui ont des propriétés de bronzage de la peau, c'est-à-dire de la faire pourrir (empêcher la carie), et sont liés aux propriétés des macromolécules (protéine) la capacité de se lier et de précipiter les alcaloïdes et la gélatine (Harrar, 2012).

Selon Boudjouref (2011), il existe deux types de tanins : les tanins hydrolysables et les tanins condensés, également appelés : proanthocyanidines

A) Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des polyesters d'hydrates de carbone et d'acides phénoliques. Ils sont facilement décomposés par la tannase en sucres et acides phénoliques, selon ses propriétés : tanins galliques et Ellagitanins

- Tanins galliques (Gallo tanins) Ils donnent par l'hydrolyse des oses et de l'acide gallique.
- Tanins ellagique (Ellagitanins) Ils sont scindés par les enzymes en oses et en acide ellagique.

B) Les tannins condensés

Ce sont des proanthocyanidines. C'est-à-dire, des composés polyphénoliques hétérogènes: dimères, oligomères ou polymères de flavanes, flavan-3-ols, 5-flavanols, 5-deoxy-3-flavanols et flavan-3,4-diols. Les tanins condensés sont des molécules hydrolysables, leur structure voisine de celle des flavonoïdes est caractérisée par l'absence de sucre.

II.1.2.1.4. Les terpénoïdes

Les terpènes ingrédients le plus grand ensemble des métabolites secondaires des végétaux, notamment les plantes supérieures. Ils sont également rencontrés dans les autres types d'organismes vivants (algues, mousse, mushrooms, insectes) (**Guessoum, 2015**). Leur spécialité structurée la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique (**Boubekri, 2014**).

II.1.2.1.5. Les hétérosides

Les hétérosides ou glycosides sont des molécules formées par combinaison d'oses et de Matériels non glucidique appelées aglycones ou génines. Ce sont le secondaire le plus anciennement connues. Il forment des Matériels de réserve localisées dans les réserves. Leurs localisations ou génines qui appartiennent à tous les groupes de métabolisme secondaire (flavonoïde, saponosides, et tanins) et par le mode de liaison entre le génine et l'ose ainsi que par la nature de la partie glucidique. Ils sont classés selon la nature de la liaison en C-, N, O-, S- hétérosides (**Aref, 2015**).

II.1.2.1.6. Les saponosides

Les saponines sont des métabolites secondaires hétérosidiques, fréquemment rencontrés chez les végétaux supérieurs en particulier chez les Dicotylédones (racines, fruits, écorces, rêtiges, feuilles en les en Le nom saponoside est dérivé du mot latin *sapo* qui veut dire savon, qui évoque le caractère moussant de leur solution aqueuse. Ce pouvoir tensio-actif est dû au caractère amphiphile des molécules, à la fois hydrophile des molécules, à la fois lipophile Water (la partie osidique). Les saponosides sont des composés, pour la plupart, très polaires et souvent retrouvés sous forme de mélanges complexes dans la plante. Ils possèdent en outre un large spectre de propriétés immunomodulation, immunomodulation, immunomodulation Adjuvant, cytotoxicity, anti-tumor and low cholestérol (**Kissoum et Khalfaoui, 2015**).

II.1.2.1.6. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des matériels organiques naturelles composés de carbone, d'hydrogène, d'oxygène et d'azote. Typiquement comme les amines primaires, secondaires, out tertiaires et cela confère la basicité à l'alcaloïde, en facilité solvant leur isolement et purification comme sels solvables dans l'eau formés en présence des acides minéraux. Ils peuvent être présents dans tous les Organes Leur teneur est très variable, généralement incluses entre

0.1% et 2 à 3% du poids sec de la drogue. Les alcaloïdes existent rarement à l'état libre, mais le plus souvent ils sont combinés à des acides organiques ou à des tanins (Aref, 2015).

Du point de vue biologique, les alcaloïdes sont des molécules très intéressantes car certaines constituent les principes actifs de plusieurs extraits de plantes qui étaient auparavant utilisés comme médicaments, poisons ou psychotropes. Ils sont insolubles ou extrêmement difficiles à dissoudre dans l'eau, par contre ils sont solubles dans l'alcool, l'éther, l'acide et l'ammoniac (Aref, 2015).

II.2. Les activités biologiques des champignons

II.2.1. Activité antibactérienne

Les champignons ont besoin de composés antibactériens pour survivre dans leur environnement naturel, donc certaines substances à faible capacité inhibitrice (acide aplanoxydique contre Trichophyton mentagrophytes et stéroïdes, tels que 5-ergosta-7, 22-dien-3 β -ol de différents types d'isolats de champignons micro-organismes résistants aux micro-organismes Gram-positif et Gram-négatif) ou hautement inhibiteurs (acide oxalique), ce qui peut être bénéfique pour l'homme (Lindequist, 2005).

II.2.2. Activité antifongique

L'amphotéricine extrait de *Streptomyces nodosus*, appelée Fungizone, est l'un des agents antifongiques les plus couramment utilisés pour traiter les infections à levures et moisissures. Comparé à d'autres produits tels que la caspofungine ou le fluconazole, son prix est particulièrement bas, et il est efficace contre la plupart des levures comme *Candida*, qui sont spécifique à l'homme (Belkherroubi-Sari et al. 2013).

Cependant, son utilisation est principalement limitée par sa toxicité (Sugar, 1995). Ses effets secondaires peuvent endommager le système urinaire, entraînant une insuffisance rénale, une incontinence urinaire et une acidose tubulaire rénale (Deray et al, 2002). Par conséquent, le développement de nouveaux traitements antifongiques est pertinent. Certaines modifications ont été apportées en utilisant la méthode décrite par Fisher et Armstrong pour mesurer l'activité anti fongique. La levure *Candida albicans* (ATCC 18804) a étéensemencée dans une plaque de microtitration 96 puits à fond plat à une densité de 2 x 10³ levures par puits dans un volume de 100 μ l de bouillon Sabouraud-dextrose (Difco). Ajouter des extraits en concentrations croissantes de 1,56 à 200 μ g/ml dans un volume de 100 μ l par puits.

Incuber la microplaque à 37°C pendant 24 heures. Un spectrophotomètre Varioskan (Thermo, Labsystems) a été utilisé pour mesurer l'absorbance à une longueur d'onde de 540 nm. Le résultat est exprimé comme la concentration minimale qui inhibe 90 % (CMI90) de la croissance fongique (**Fisher et Armstrong, 1977**).

II.2.3. Activité antidiabétique

Le diabète est un trouble métabolique qui touche environ 250 millions de personnes dans le monde. Afin de trouver des traitements plus efficaces avec moins d'effets secondaires, les chercheurs se tournent de plus en plus vers les grandes bactéries dont *Pleurotusostreatus* (**Deepalakshmi&Mirunalini, 2014**). En effet, l'index glycémique des champignons comestibles est très bas (IG = 15) (**Roncero&Delgado,2017**)

II.2.4. Activité anticancéreuse

Le traitement le plus couramment utilisé pour traiter le cancer est la chimiothérapie. Ce traitement consiste à administrer un composé qui cible les cellules cancéreuses pour les empêcher de se développer dans le corps. Malheureusement, la chimiothérapie s'accompagne souvent d'effets secondaires pour le patient. En effet, les médicaments anticancéreux affectent également les cellules saines. Ces effets se manifestent par des symptômes tels que la perte de cheveux, les troubles gastro-intestinaux et l'anémie aplasique (**Société canadienne du cancer 2015**).

Afin de déterminer une activité anti tumorale potentielle d'un champignon, un test a très longtemps été utilisé en recherche. Ce test est basé sur un mécanisme allo génique de rejet de greffe tumorale in vivo. En effet, une tumeur solide de sarcome* 180 est implantée en sous-cutané au niveau abdominal d'une souris. L'administration des extraits de champignons à tester s'effectue à partir du troisième jour après l'implantation et une fois par jour par voie intra péritonéale pendant 25 jours à une dose prédéfinie dans le protocole. Au 25ème jour, la tumeur est extraite et mesurée afin de déterminer le taux d'inhibition par rapport à des souris non traitées (**Batut, 1995**).Ce test a permis d'établir une liste de champignons avec un potentiel anticancéreux (**Annexe 1**).

II.2.5. Activité anti-inflammatoire

Le corps humain a une capacité de défense innée pour combattre les infections et éliminer les corps étrangers indésirables, qu'il s'agisse de virus, de bactéries ou de nos propres cellules endommagées. L'inflammation est la première étape de la réponse immunitaire. La simulation des conditions existant dans le tube digestif humain prouve que les champignons non seulement en accumulent et en synthétisent dans le tube digestif humain, mais les libèrent également. Les corps fruitiers de champignons comestibles *Boletuse dulis*, *Leccinumscabrum*, *Suillus bovinus*, *Suillus luteus*, *Pleurotus ostreatus*, *Tricholomaequestre*, *Agaricus bisporus* et *Auricularia polytricha* ont été utilisés afin de déterminer les facteurs de l'inflammation, Parmi ces espèces, la composition des fructifications fongiques comestibles a été enregistrée et confirmée comme étant une bonne source d'agents anti-inflammatoires humains (**Kala et al., 2017**).

La détermination de l'activité anti-inflammatoire des champignons comestibles peut être réalisée par la mesure de l'effet inhibiteur sur la formation de lysine chloramine induite par HOCl. L'extrait d'eau chaude de *Grifolagargal* montre la plus forte activité anti-inflammatoire. Le principal ingrédient actif de *G. gargal* a été identifié comme étant l'EGT. Ce principe actif a été également appliqué sur les adipocytes de souris stimulés par le TNF α , et il a été constaté que l'EGT a une activité anti-inflammatoire sur les adipocytes. De ce fait, les champignons comestibles contenant de l'EGT peuvent être bénéfiques pour la santé humaine(**Ito et al., 2011**)

II.2.6. Activité antioxydante

Les antioxydants sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres, les rendant inoffensifs et mettant fin à la réaction en chaîne avant que des molécules importantes ne soient endommagées. Chaque molécule antioxydante ne peut réagir qu'avec un seul radical libre, il est donc nécessaire de reconstituer constamment les ressources d'antioxydants. Les mécanismes de défense antioxydants du corps peuvent être divisés en deux catégories :

❖ Soit synthétisé par diverses enzymes telles que les peroxyde dismutase, la catalase et le glutathion (GSH) peroxydase (**Amzal, 2010**).

❖ Soit à partir de l'alimentation, puisque ces derniers ne peuvent être synthétisés par l'être humain, car ils comprennent les nutriments et les métabolites secondaires des végétaux, citons par exemple: les vitamines E et C, les caroténoïdes, le sélénium, les folates, les flavonoïdes, les phytoes trogènes, les glucosinomines lènespolyglycoside(**Svoboda et Hampson, 1999; Pelli et Lyly, 2003; Rolland, 2004**).



Chapitre III : Matériel et méthodes

III.1. Etude phytochimique

III.1.1. Matériel et méthode utilisée

Macération

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple qui consiste à mettre en contact prolongé du matériel végétale avec un solvant, pour permettre aux constituants actifs de bien diffuser. C'est une extraction qui se fait à température ambiante afin de préserver les substances thermosensibles (**Bouchouka, 2016**)

- Le choix des solvants d'extraction

Le solvant extracteur est choisi de telle sorte que l'espèce chimique à extraire y soit le plus soluble possible.

A- Solvants plus polaires (l'eau, l'éthanol, le méthanol), sont utilisés pour extraire les composés plus polaires (par exemple, des flavonoïdes glycosides, des tanins, des alcaloïdes).

B-Solvants de moyenne polarité (acétate d'éthyle, le dichloro-méthane) sont utilisés pour extraire des composés de polarité intermédiaire (par exemple, certains alcaloïdes, flavonoïdes).

C- Les solvants non polaires (n-hexane, l'éther de pétrole, le chloroforme) sont utilisés pour solubiliser la plupart des composés lipophiles par exemple, des acides gras, des cires, des pigments, des stérols, une certaine terpénoïdes, alcaloïdes, et des coumarines).

D'autres critères de choix:

Le solvant choisi, doit être caractérisé par une faible toxicité, une faible inflammabilité et un faible risque d'explosion. En outre, il doit être économique et facilement recyclé par évaporation (soit volatil et température d'ébullition faible) (**Seidel, 2008**).

L'évaporation rotative

L'évaporation rotative utilise une technique rapide et efficace de séparation, c'est un appareil basé sur la distillation simple sous vide, qui permet d'éliminer rapidement de grandes quantités de solvant, bien que partiellement, appelé souvent 'rotavapor'. L'évaporateur rotatif utilisé lors de l'expérimentation est de type **Buchi R-210**,

-Le principe de l'évaporateur rotatif :

Le mélange de solvant et de soluté est placé dans le ballon droit, celui-ci est plongé dans un bain-marie (Fig.7). Il est incliné et animé d'un mouvement de rotation de manière à créer un film de liquide et ainsi accroître la surface d'évaporation du solvant. La pression à l'intérieur du montage est abaissée au moyen d'une trompe à eau ce qui augmente la vitesse d'évaporation. Après condensation dans le réfrigérant, le solvant est récupéré dans le ballon de gauche (Ould Amar, 2013)

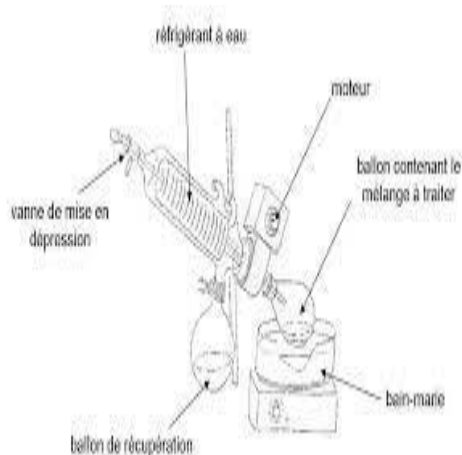


Figure 7: Buchi-R-210-Rotavapor-System (site 5)

III.1.2. Matériel végétal

Les deux champignons *Pleurotus* et *Suillus* ont été récoltés dans la région de Ghazaouet, wilaya de Tlemcen le 23 février 2020 et ont été par la suite séchés et conservés dans un endroit bien aéré, à une température ambiante et à l'abri de la lumière.

III.1.3. Préparation des extraits

Après broyage des champignons au mortier, nous avons réalisé une extraction solide/liquide en milieu hydro-alcoolique (méthanol/eau : 70/30). Nous avons adopté une méthode de préparation par macération.

Procédure

-Le procédé consiste à faire une macération sous agitation, à température ambiante, pendant 24 heures, de 10 g du matériel végétal dans 100ml de mélange méthanol-eau (70/30).

-Filtrer le mélange à l'aide d'un papier Whatman et récupérer le filtrat.

-Utiliser un évaporateur le filtrat à sec pour la détermination des polyphénols totaux, des tanins, des flavonoïdes et des sucres totaux.

III.1.4. Calcul du rendement des extraits

Selon (**Hadj Moussa.A, 2012**), le rendement en pourcentage de champignons en extrait sec a été calculé par la formule :

$$R(\%) = (M / M_0) \times 100$$

R(%) : rendement en pourcentage.

M : masse en gramme de l'extrait sec résultant.

M₀ : masse en gramme du matériel végétal de départ.

III.1.5. Criblage des métabolites secondaires

Le criblage des métabolites secondaires est un test qualificatif qui permet de mettre en évidence la présence ou l'absence des composés chimiques tels que : les alcaloïdes ; les saponines ; les polyphénols ; les flavonoïdes ; les quinones(**Facult et al., 2016**)

III.1.6. Tests phytochimiques

Divers tests phytochimiques ont été effectués sur l'extrait hydro-méthanolique obtenu pour prouver l'existence de divers métabolites secondaires dans le champignon par réaction colorée, précipitation et observation à la lumière ultraviolette. Ces tests sont basés sur la technique de caractérisation qualitative décrite par **Trease et Evans, (1989)** et **Harborne (1998)**

Les résultats ont été évalués comme suit :

++ : Fortement positif ; + : Faiblement positif ; - : Négatif

Les alcaloïdes

Dans les deux tubes à essai, placer 0,5 ml de l'extrait à analyser. Acidifier le milieu avec quelques gouttes d'HCl (1%), ajouter 0,5 ml de réactif de Mayer dans le premier tube et 0,5 ml de réactif de Wagner dans le second tube. Respectivement, des précipités blancs ou bruns apparaissent, indiquant la présence d'alcaloïdes.

Les composés polyphénoliques

Les tanins

Dans le tube à essai, ajouter 1 ml de l'extrait à analyser, ajouter 0,25 ml de solution aqueuse de FeCl₃ (1%) et incuber à température ambiante pendant 15 min. La présence de tanin est indiquée par le vert clair ou le bleu-noir.

Les flavonoïdes

Dans l'éprouvette, ajouter 1 ml de l'extrait à analyser, ajouter 1 ml d'acide chlorhydrique concentré et quelques copeaux de magnésium. L'apparition de rose ou de rouge ou de jaune prouve la présence de flavonoïdes.

Les quinones

Dans le tube à essai, ajouter 1 ml de l'extrait à analyser et ajouter 0,1 ml d'hydroxyde de sodium (1% NaOH). Le changement de couleur en jaune, rouge ou violet indique la présence de quinone libre.

Anthraquinones

Dans le tube à essai, ajouter 1 ml de l'extrait à analyser, ajouter 1 ml de NH₄OH (10 %) et bien agiter. L'aspect violet indique la présence d'anthraquinone.

Les saponines : test de mousse

Dans deux tubes à essai, mettre 1 ml de l'extrait à analyser, utiliser le premier comme témoin, et ajouter 0,1 ml de NH₄OH (10 %) à l'autre. Placer deux points sur le papier filtre et inspecter sous une lumière ultraviolette de 366 nm. Une forte fluorescence indique la présence de coumarine.

Terpénoïdes : Test de Slakowski

Ajouter 1 ml de l'extrait à analyser dans le tube à essai, ajouter 0,4 ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases et la couleur brune de la phase médiane indiquent la présence de terpénoïdes.

Les composés réducteurs

Dans un tube à essai, ajouter 1 ml de solution de Fehling (0,5 ml de réactif A et 0,5 ml de réactif B) à 1 ml d'extrait à analyser, puis incuber au bain-marie bouillant pendant 08 minutes. L'apparition de précipités rouge brique indique la présence de composés réducteurs.

III.1. 7. Dosage des polyphénols

Le réactif utilisé est le Folin-Ciocalteu, qui est un mélange de complexes acides L'acide phospho-tungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et l'acide phospho-molybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) sont jaunes. Le principe de la méthode repose sur le réactif qui oxyde les composés phénoliques. Elle conduit à la formation d'un nouveau complexe bleu molybdène-tungstène, qui absorbe à 765 nm.

Procédure

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon une méthode colorimétrique décrite par **Nickvar et al. (2008)**.

Mélanger 50 μ l d'échantillon ou une des concentrations étalons (0 à 400 μ g/ml d'acide gallique) avec 1 ml de réactif Folin-Ciocalteu (0,2 N) et incubé à température ambiante. Après 10 minutes, ajouter 0,8 ml de solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) (75%). La solution finale a été soigneusement mélangée et maintenue dans l'obscurité pendant 30 minutes, et l'absorbance a été lue à 765 nm (**annexe2**). La teneur en composés phénoliques est déterminée en référence à la courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide gallique.

Les résultats sont exprimés en microgramme équivalent acide gallique par milligramme de matière sèche de l'extrait obtenu (μ g EAG/mg MS).

III.1. 8. Dosage des flavonoïdes (Flv)

Le réactif utilisé est une solution incolore de nitrite de sodium ($NaNO_2$) et de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$). Le principe de cette méthode repose sur l'oxydation des flavonoïdes par ces réactifs. Il en résulte la formation d'un complexe rose qui absorbe à 510 nm.

Le dosage des flavonoïdes a été effectué selon une méthode colorimétrique décrite par **Zhishen et al., (1999)**.

Procédure

Mélanger 250 μ l d'échantillon ou une des concentrations de la gamme standard (20 à 260 μ g/ml de catéchine) avec 1 ml d'eau distillée, puis ajouter 75 μ l de solution de $NaNO_2$ (15%). Après incubation à température ambiante pendant 6 minutes, ajouter 75 μ l de chlorure d'aluminium $AlCl_3$ (10%). Après avoir laissé reposer à température ambiante pendant 6 minutes, ajouter 1 ml d'hydroxyde de sodium $NaOH$ (4%) au mélange. Le volume total est au maximum de 2,5 ml d'eau distillée. La solution finale a été soigneusement mélangée et maintenue dans l'obscurité pendant 30 minutes, et l'absorbance a été lue à 510 nm (**annexe3**).

La teneur en flavonoïdes est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue avec les catéchines.

Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme équivalent catéchine par milligramme de la matière sèche de l'extrait obtenu ($\mu\text{g EC /mg MS}$).

III.1. 9. Dosage des tanins condensés

Les tanins condensés se dépolymérisent en milieu acide et réagissent avec la vanilline pour se transformer en anthocyanes rouges, qui absorbent à 550 nm. Cette couleur est directement proportionnelle à la quantité de tanins condensés présents dans l'extrait.

Procédure

Le dosage des tanins condensés est réalisé par le réactif de la vanilline, selon la méthode décrite par (**Sun et al., 1998**).

Mélanger 50 μl de chaque extrait (1 mg/ml) avec 1500 μl de solution de vanilline/méthanol (4%, w/v);

- Agiter les tubes au vortex et ajouter 750 μl du HCl (35%) ;
- Laisser le mélange incubé pendant 20min à température ambiante ;
- Mesurer l'absorbance à 550nm.

Une gamme d'étalonnage de la catéchine (100 à 1000 $\mu\text{g/ml}$) a été préparée dans les mêmes conditions expérimentales.

Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme &équivant catéchine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EC/mg E}$).

III.1.10. Dosage des sucres totaux

La teneur totale en glucides des extraits de champignons était déterminée à l'aide de la méthode de l'acide phénol sulfurique. En bref, 0,25 ml d'un échantillon dilué approprié a été préparé dans un tube à essai et 1,25 ml d'acide sulfurique concentré (95% v/v).et 0,25 ml de phénol (5% v/v) ont été ajoutés immédiatement été chauffé à 100 C pendant 5 minutes, puis refroidi à la température ambiante. La teneur totale en glucides de l'échantillon de champignons était déterminée par colorimétrie à une absorbance de 490 nm. Standard et des échantillons blancs ont été préparés et analysés de la même manière, sauf pour ajouter 0,25 ml de glucose à l'échantillon standard et 0,25 ml de glucoside l'eau distillée à l'échantillon témoin (**Sawangwan et al., 2018**).

Tableau 1: Activités biologiques des Métabolites secondaires

Métabolites secondaires	Activités biologiques
Acides Phénoliques	Antibactérienne, Antifongique, Antioxydant (Hannebelle, 2006 ; Bruneton, 2009), antiulcéreuse (Kim et al., 2010).
Coumarines	Anticoagulant, antioxydant, protectrice vasculaire (Bruneton., 2009 ; Hennebelle.,2006), analgésiques (Ito et al., 2005).
Tanins	Favorise la régénération des tissus (Khanbaba et Rea 2001). Inhibe la peroxydation des lipides (Perret, 2001). Piégeurs des radicaux libres (Bruneton., 2009). Précipite les protéines (fongiques et virales) et les métaux lourds (Kansol., 2009).
Flavonoïdes	Veinoactifs : capable de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et renforceur résistance. Anti-radicalaires : capable de piéger les radicaux libres en formant des radicauxflavoxy les moins réactifs : Flavonoïde (OH) + R [·] → flavonoïde (O [·]) + RH.(Bruneton., 2009). Chélatrices des ions métalliques (Malesév et Kuntié, 2007). Anti allergique, hépato protecteur, antivirales, Anti tumorale, antispasmodiquediurétique, antioxydant, anti inflammatoire, et antimutagène (Hannebelle, 2006 ;Bruneton, 2009).
Alcaloïdes	Au niveau du système nerveux central, qu'ils soient dépresseurs (morphine) ou stimulantes (caféine), antifibrillants (quinidine), antitumoraux (vincristine), antipaludiques (quinine) (Bruneton, 2009) et antidiabétiques (Azzi, 2013).
Saponosides	Antitumoraux : inhibent la formation des tumeurs induite par le virus Epstein-Barr(Bruneton, 2009).

III.2. Activité anti radicalaire

Test de piégeage du radical libre DPPH[·] (2,2 diphenyl-1-Picrylhydrazyl)

Le DPPH[·] est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale libre et sa simplicité de l'analyse, au contact d'une substance donneuse de proton le DPPH[·] (2,2 diphenyl-1-Picrylhydrazyl) de couleur violette se réduit en 2,2 diphenyl-1 Picrylhydrazine de couleur jaune (**Figure 8**). Cette décoloration met en évidence le pouvoir antioxydant d'un échantillon par sa capacité à piéger le radical libre et se traduit par une diminution de l'absorbance à 517 nm (**Parejo et al., 2003 ; Maataoui et al., 2006**).

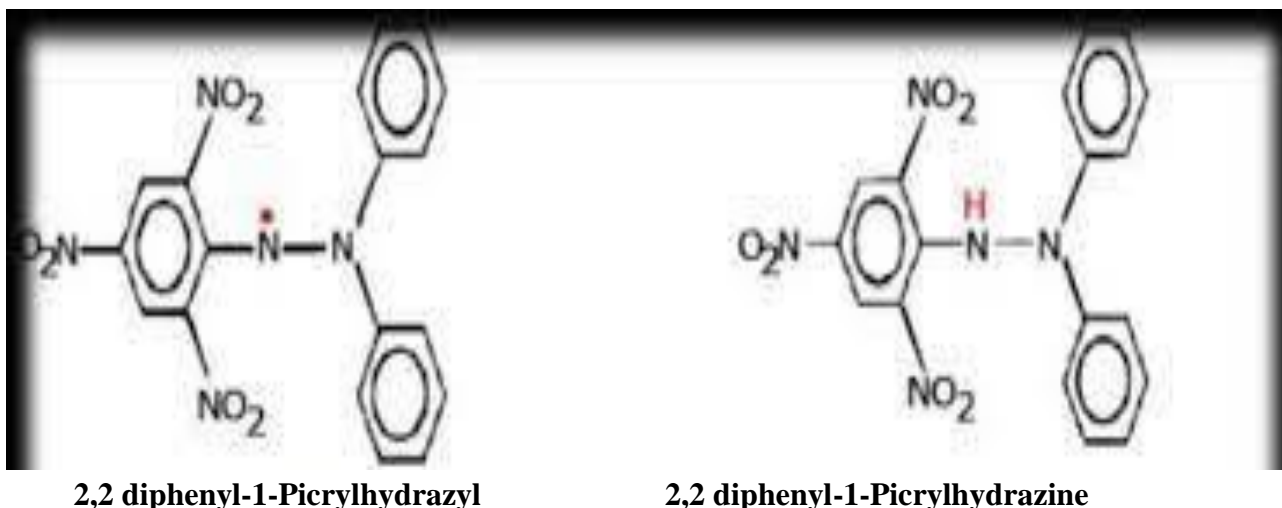


Figure 8: Forme libre et réduit de DPPH` (Molyneux, 2004).

Procédure

- Après avoir préparé le diluant d'extrait de champignon dans de l'éthanol à 96% (v/v), placer 25 µL de chacun dans un tube Eppendorf, et ajouter 975µl de solution DPPH (60 µM).
- Le mélange réactionnel est agité juste avant d'incuber
- Placer au laboratoire dans l'obscurité et à température ambiante pendant 60 minutes.
- Un spectrophotomètre Shimadzu 160-UV (Tokyo, Japon) a été utilisé pour mesurer l'absorbance du milieu réactionnel à 517 nm contre un contrôle négatif (contenant de l'éthanol à la place de l'extrait). Chaque test est répété 3 fois. (Tefiani, 2015)
- Le pourcentage d'inhibition des radicaux libres DPPH est calculé comme suit :

$$PI = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$$

Avec :

PI: pourcentage d'inhibition.

A₀ : absorbance du control (sans échantillon)

A₁ : absorbance de l'échantillon après 60 min

L'étude de la variation de l'activité anti radicalaire en fonction de la concentration des extraits permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (IC₅₀). Une faible valeur d'IC₅₀ correspondant à une grande efficacité de champignon.

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1. Etude phytochimique

IV.1.1. Rendement d'extraction

Le rendement en extrait sec, sont présentés dans le **tableau 02**

Tableau 2: les rendements des différents extraits

Extrait	Poids (g)	Rendement (%)
<i>Pleurotus</i>	0,195	3,9
<i>Suillus</i>	0,729	14,58

IV.1.2. Test phytochimique

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur les extraits hydrométhanoliques du champignon *Pleurotus*, préparé par macération. Les résultats sont reportés dans le **tableau 3**.

Tableau 3: Résultats des tests phytochimiques réalisés sur les extraits hydro-méthanoliques de champignon *Pleurotus* préparés par macération

Tests phytochimiques		Les résultats
Métabolites secondaires	Réactifs	Macération
Alcaloïdes	Mayer	++
	Wagner	++
Tanins	FeCl ₃ 1%	-
Flavonoïdes	AlCl ₃	+
Composés réducteurs	Liqueur de Fehling	+
Quinones	NaOH	++
Anthraquinones	NH ₄ OH 10%	-
Terpénoïdes	Test de Slakowski	++
Saponines	Test de mousse	+ (05mm)

++ : Fortement positif ; + : Faiblement positif ; - : Négatif

Les tests phytochimiques qui ont été réalisés sur l'extrait eau-méthanol du champignon *Suillus* préparé par macération ont révélé les résultats présentés dans le **tableau 04**.

Tableau 4: Résultats des tests phytochimiques réalisés sur les extraits hydro-méthanoliques de champignon *Suillus* préparés par macération

Tests phytochimiques		Les résultats
Métabolites secondaires	Réactifs	Macération
Alcaloïdes	Mayer	++
	Wagner	++
Tanins	FeCl ₃ 1%	+
Flavonoïdes	AlCl ₃	++
Composés réducteurs	Liqueur de Fehling	++
Quinones	NaOH	++
Anthraquinones	NH ₄ OH 10%	-
Terpénoïdes	Test de Slakowski	++
Saponines	Test de mousse	+ (02mm)

- La recherche, les anthraquinones a été négative.
- Il est à noter que la présence de faibles quantités de tanins et de saponines dans ce champignon réduit la génine. D'autre part, nous avons également remarqué la présence d'un grand nombre de terpénoïdes, d'alcaloïdes, de quinones, de composés réducteurs et de flavonoïdes dans les échantillons.

IV.1.3. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux (PPT) a été estimé par la méthode colorimétrique de FolinCiocalteu. C'est l'une des méthodes les plus anciennes conçue pour déterminer la concentration en polyphénols totaux des plantes médicinales et des aliments.

La courbe d'étalonnage représentée dans la **figure9** montre une linéarité de l'absorbance de l'acide gallique en fonction des concentrations.

Les quantités de PPT ont été rapportées en microgramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche ($\mu\text{g EAG/g MS}$) et sont déterminées par l'équation de type :

$$y = 0,0018x + 0,0263 \text{ sachant que } R^2 = 0,9983.$$

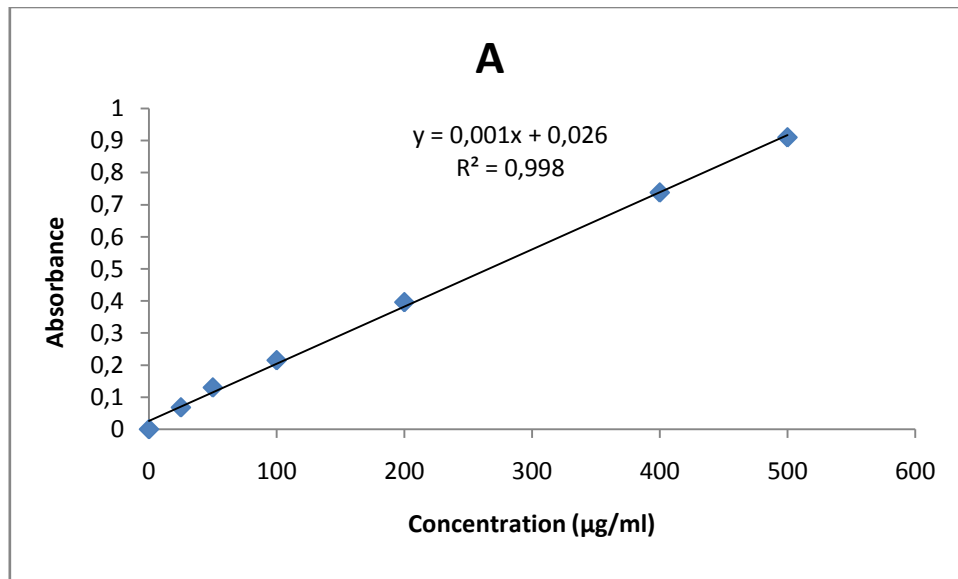


Figure 9: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

Le taux des polyphénols totaux enregistré des espèces étudiées est représenté dans la **figure 10**.

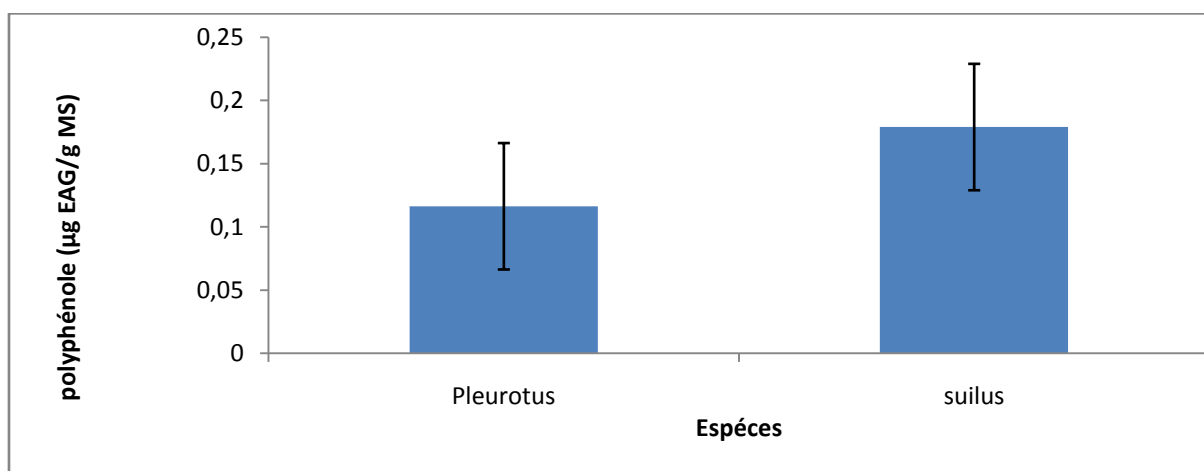


Figure 10: Taux des polyphénols totaux de *Pleurotus* et *suillus*.

Ces concentrations en PPT sont nettement supérieures chez le *Suillus* avec 0.179 ± 0.02 mg EAG/g MS ; comparé à celui obtenue chez *Pleurotus* avec 0.116 ± 0.007 mg EAG/g MS.

Dans le travail réalisé par **Wong et al.(2013)**, ils ont constaté une légère différence entre la concentration en PPT des extraits éthanoliques des carpophore de *Pleurotus ostreatus* et celles de *P.florida* et *P. eryngii* (respectivement $3,72 \pm 0,02$ et $3,57 \pm 0,14$ mg EAG/g MS).

Comparés à d'autres espèces de champignons comestibles comme *Hypsizygustessulatus* et *Flammulinavelutipes* ($3,14 \pm 0,31$ et $0,9 \pm 0,1$ mg EAG/g MS), les extraits aqueux des carpophores de *P.ostreatus* local sont plus riches en PPT.

Néanmoins, les extraits acétoniques et celles des extraits à l'éther de pétrole de *Postreatus* obtenus par **Iwalokun en 2007** sont largement plus riches en PPT en enregistrant des taux respectifs de 352,8 mg EAG/g MS et 325,7 mg EAG/g MS.

IV.1. 4. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes (FVT) constituent la classe polyphénolique la plus importante (**Athamena, 2009**).

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode $AlCl_3$ en utilisant comme standard la catéchine. La courbe d'étalonnage montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations (**Figure 11**).

Les quantités des FVT ont été rapportées en microgramme d'équivalent de catéchine par gramme de matière sèche ($\mu\text{g EC/g MS}$) et déterminé par l'équation de type : $y = 0.003x + 0.021$ sachant que $R^2 = 0,998$.

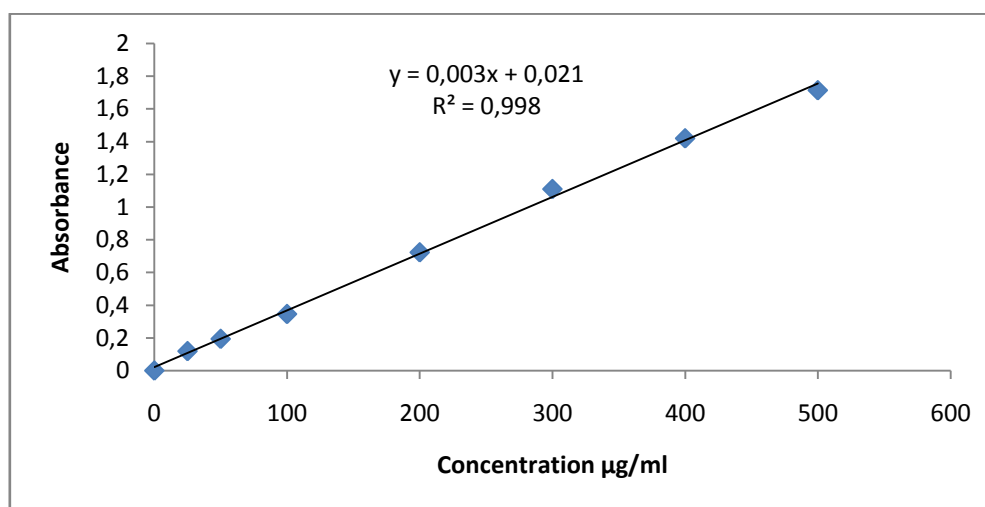


Figure 11: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes

- Le taux des flavonoïdes enregistré des deux espèces étudiées est représenté dans la **figure 12**.

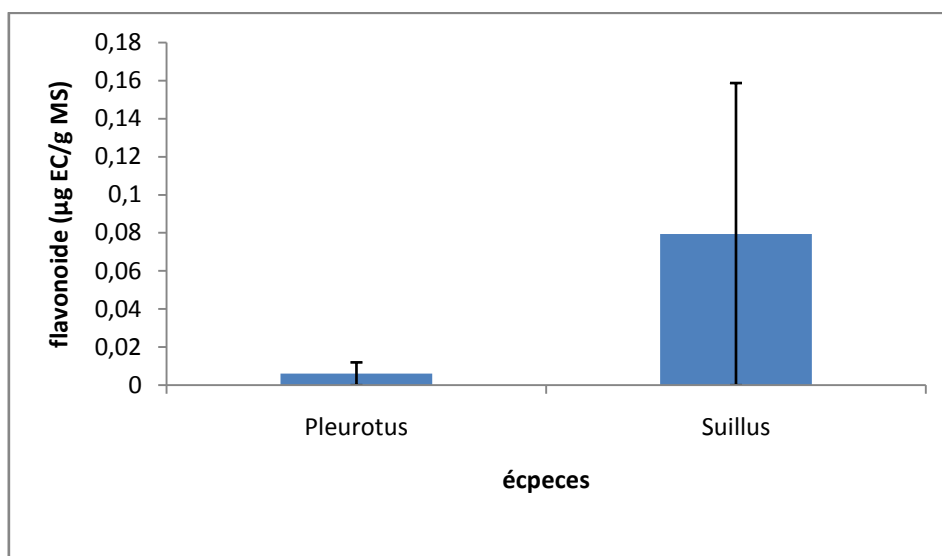


Figure 12: Taux de flavonoïdes de *Pleurotus* et *Suillus*.

La concentration en flavonoïdes dans l'extrait hydro-méthanolique de *Pleurotus* est relativement faible ($0,006 + 0,009 \mu\text{g EQ/g MS}$). D'autre part, lorsqu'un grand nombre de flavonoïdes a été trouvé dans les résultats des tests phytochimiques, l'extrait de *Suillus* présentait la concentration de FVT la plus élevée ($0,793 \pm 0,015 \mu\text{g EC / g MS}$).

Si nous comparons nos résultats avec les résultats reportés par **Bag et al. (2015)** qui ont étudiés plusieurs champignons, nous remarquerons une remarquable différence car les concentrations des flavonoïdes sont relativement faibles dans les extraits aqueux de carpophore de *P. ostreatus* ayants poussés sur le marc de café ($0,133 \pm 0,042 \text{ mg EC/g MS}$) Parcontre l'extrait de carpophores de *P. ostreatus* ayant poussé sur un mélange de substrats amontré la concentration la plus élevée en FVT avec $0,798 \pm 0,060 \mu\text{g EC/g MS}$. *P. ostreatus* ayant poussé sur le mélange Grignons d'olives, Marc de café et paille de blé contient plus de FVT que les extraits éthanoliques d'autres espèces de Pleurotes: *Pleurotus florida*, *Pleurotus eryngii*(respectivement $0,17 \pm 0,02$ et $0,48 \pm 0,04 \text{ mg EC/g MS}$) et moins que les-autres genres de champignons comestibles comme *Auricularia polytricha* et *Hypsizygustes sulatus* dont les valeurs sont respectivement de $6,95 \pm 0,14$ et $1,04 \pm 0,10 \text{ mg EC/g MS}$. *P. ostreatus* ayant poussé sur le mélange des trois substrats de culture cité auparavant s'annonce plus prometteur car il est plus riche en FVT que certaines plantes comme: *Hedychium spicatum*($4,22 \pm 0,425 \mu\text{g EQ/g MS}$), *Hedychium coronarium* ($2,47 \pm 0,079 \mu\text{g EQ/g MS}$).

IV.1.5. Dosage des Tanins totaux

La méthode utilisée pour le dosage des tanins totaux (TT) est la méthode utilisant FeCl_3 rapportée et décrite par Aiche-Iratni (2016).

Un standard d'acide tannique (AT) a été utilisé pour tracer une courbe étalon (figure13) ayant pour équation $y = 0,0005x - 0,014$, avec $R^2 = 0,9927$.

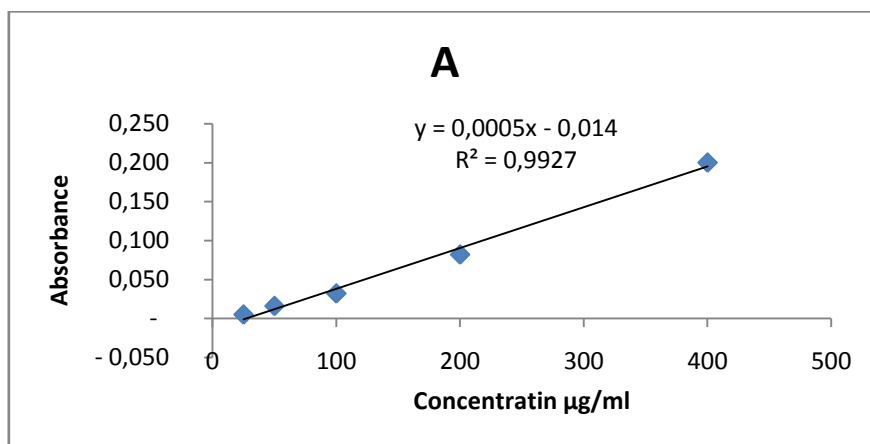


Figure 13: Courbe d'étalonnage de l'acide tannique

- Le taux des tanins totaux enregistré des deux espèces étudiées est représenté dans la figure 14.

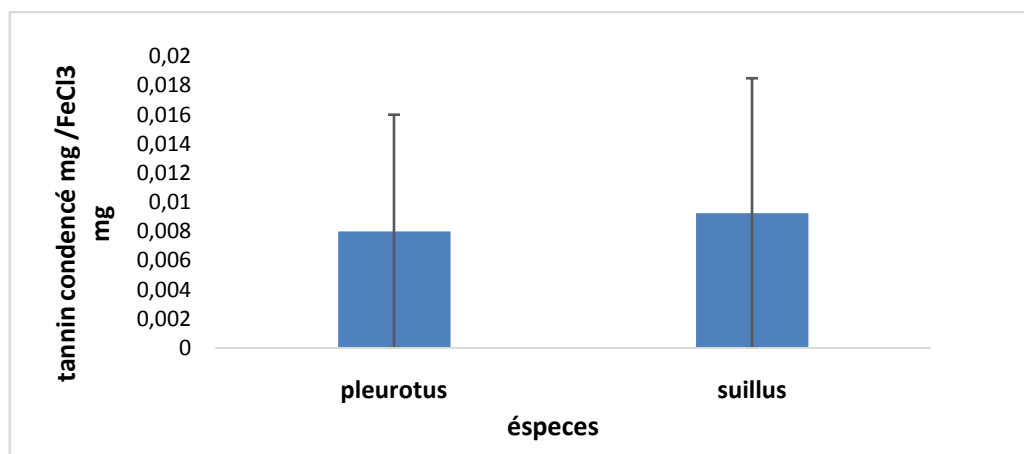


Figure 14: Taux de Tanins totaux des *Pleurotus* et *Suillus*

A travers la figure 14 nous remarquons que la concentration des tanins totaux est sensiblement élevé chez le *Suillus* (en enregistrant $0,009 \pm 0,0122$ mg EAT/100g MS)–par rapport à celle de *Pleurotus* (en enregistrant $0,008 \pm 0,014$ mg EAT/100g MS).

D'autres espèces de champignons sauvages sont très riches en TT, exemple *Russuladelica*, *Russulalepida*, *Russulamustelina* dont les concentrations en tanins totaux sont respectivement ($165 \pm 0,54$; $124,20 \pm 0,25$ et $130,05 \pm 0,16$ mg EAT/100g MS). Cependant, la présence, de grandes quantités de tanins condensés dans les extraits aqueux de *P.ostreatus cultivé*(144.33 ± 13.57 mg EC/100g MS) a été rapportée par (Yim et al., 2009).

Unekwu et al. (2014) ont trouvé des résultats nettement plus importants que les nôtres en enregistrant des taux de 76.29 ± 0.74 , 170.56 ± 0.74 et 88.91 ± 0.16 mg EAT/100g MS respectivement pour *C. cibarius*, *T. robustus* et *P. pulmonarius*.

IV.1. 6. Dosage des sucres totaux

Le dosage des sucres totaux a été réalisé à l'aide de la méthode de l'acide phénol sulfurique.

La courbe d'étalonnage des sucres totaux montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations. Les quantités des sucres totaux ont été rapportées en microgramme d'équivalent de glucose par gramme de matière sèche ($\mu\text{g EG/g MS}$) et déterminé par l'équation de type : $y=0.01x-0.023$, sachant que $R^2=0.993$ (figure 15)

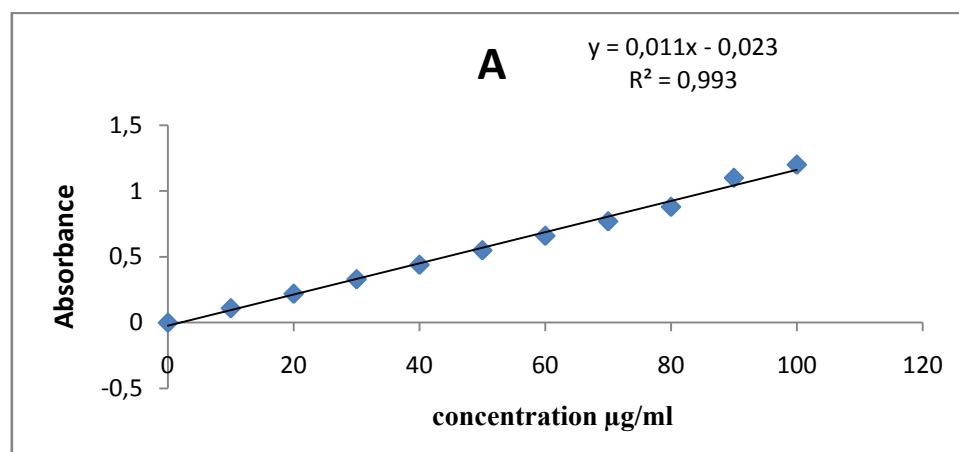


Figure 15: courbe d'étalonnage du glucose pour le dosage des sucres totaux

Le taux de sucres totaux enregistré des deux espèces étudiées est représenté dans la figure 16.

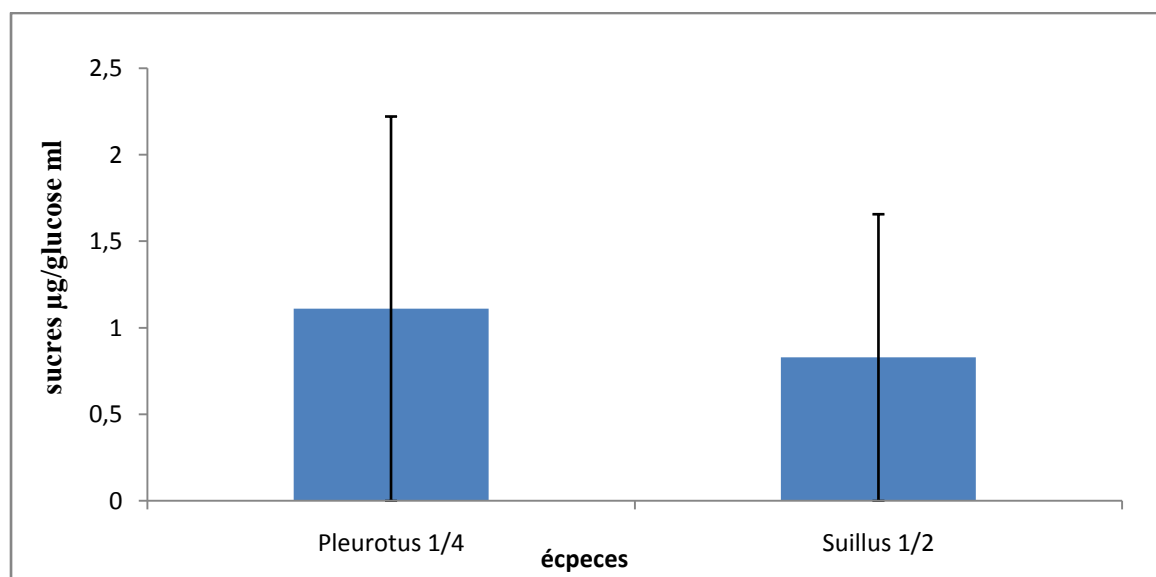


Figure 16: Taux de sucres totaux de *Pleurotus* et *Suillus*

On voit qu'il y a beaucoup de sucre dans l'espèce étudiée de *Pleurotus* ($1,1112 \pm 0,8288$ µg EG/g MS) et on a dilué l'extrait quatre fois pour obtenir ces résultats, nous avons également noté que l'extrait de *Suillus* aussi a été dilué deux fois afin d'obtenir un résultat acceptable en enregistrant des taux de $0,82 \pm 0,140$ µg EG/g MS.

Comparés à nos résultats, **Wang et al. (2017)** ont obtenus des résultats de $6,7325 \pm 0,0261$ mg/mL, $2,1994 \pm 0,0563$ mg/mL et $4,7472 \pm 0,0474$ mg/mL respectivement pour *P. ostreatus*, *Auricula judaeae* et *P. pulmonarius*.

Ces auteurs indiquent que la composition en glucides dans les extraits de champignons comprenait à la fois les sucres réducteurs et non réducteurs sont censés être des substances prébiotiques.

Remarque

La concentration des composés récupérés lors d'une extraction est étroitement liée aux conditions d'extraction et les profils et les activités biologiques sont influencées de façon importante par le système de solvants utilisé pour l'extraction (**Aiche-Iratni, 2016**).

La méthode d'extraction doit permettre une extraction complète des composés d'intérêt et doit éviter leur modification chimique (**Athamena, 2009**).

D'après les résultats des travaux de recherche que nous avons cités précédemment, la concentration en polyphénols, flavonoïdes, tannins totaux et les sucres totaux dépend aussi du genre et de l'espèce de champignon.

IV.2. Activité antioxydante

Les résultats obtenus lors du test de mesure de la réduction du radical DPPH sont représentés dans les **figures 17 et 19**.

Le premier constat tiré de ces figures est que le pourcentage d'inhibition du radical DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration des extraits des champignons étudiées. Le même constat a été fait par d'autres auteurs (**Chirinang et Intarapichet 2009 ;Sudha et al., 2012 ; Gąsecka et al., 2016**).

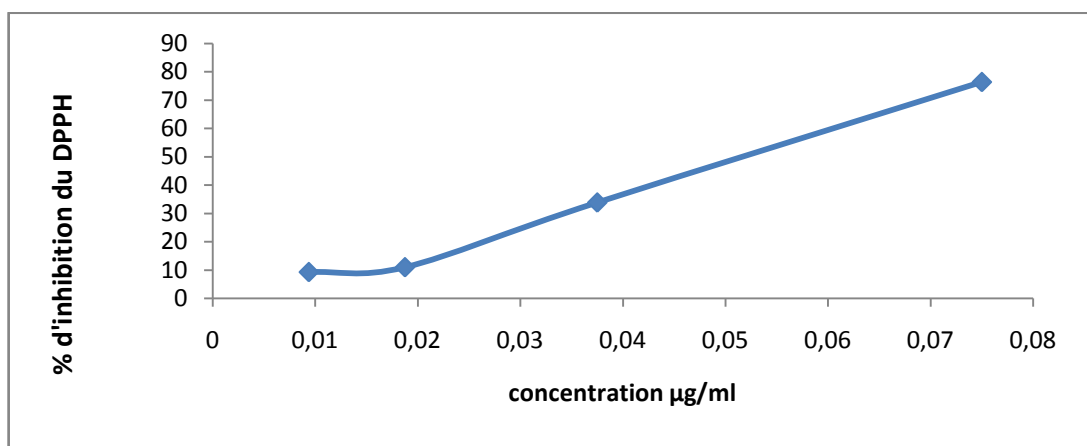


Figure 17: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH' en fonction des différentes concentrations de l'extrait de *Pleurotus*

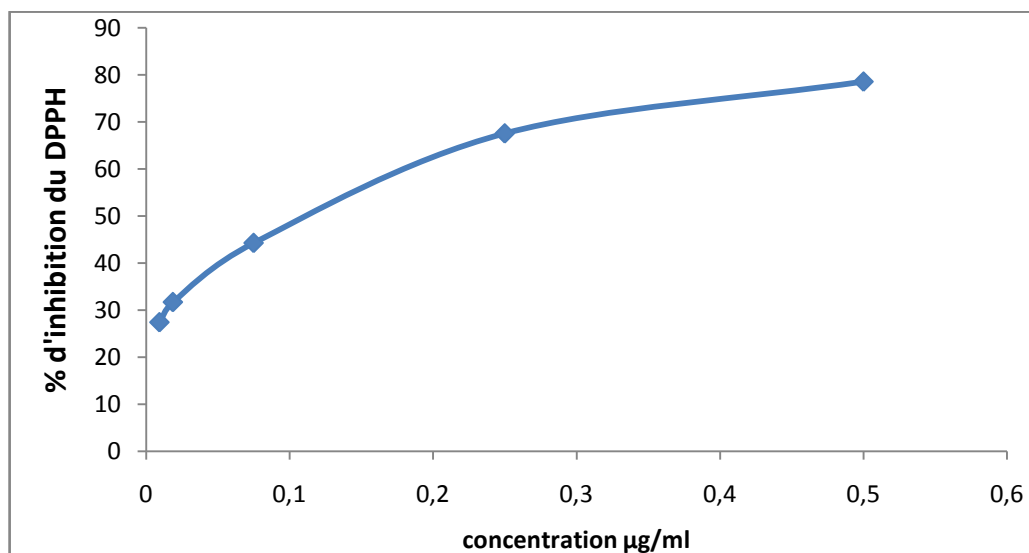


Figure 18: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH• en fonction des différentes concentrations de l'extrait de *Suillus*.

Après avoir tracé la courbe Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH^{*} en fonction des différentes concentrations des extraits de *Pleurotus* et *Suillus*, nous avons calculé l'IC₅₀ pour chaque extraits afin de pouvoir comparer leur pouvoir antioxydant.

Les résultats obtenus sont représenté dans **les figures 19 et 20**.

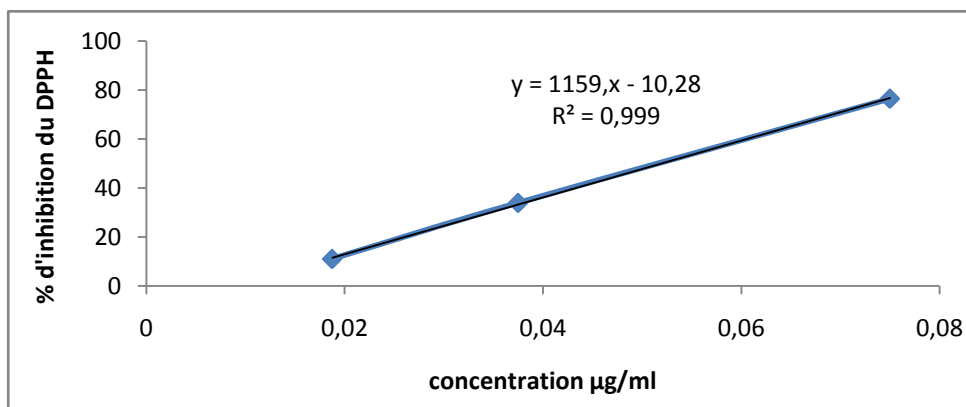


Figure 19: Valeurs d'IC₅₀ de *Pleurotus*.

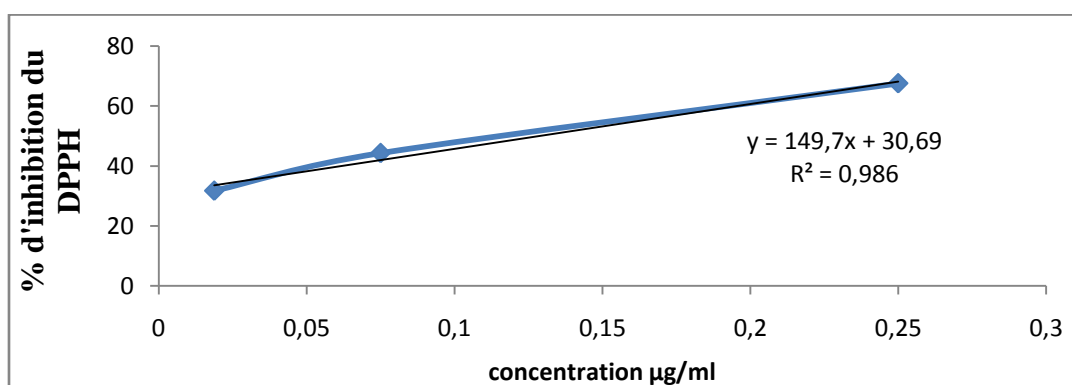


Figure 20: Valeurs d'IC₅₀ de *Suillus*.

D'après les résultats, on peut conclure que l'activité inhibitrice sur une solution éthanolique de DPPH pour les deux extraits, ces résultats ont été remarqués par les pourcentages de l'activité antioxydante (%AA) dans la **figure 17 et 18**. L'activité antioxydante des extraits est exprimée en IC₅₀ (**figure 19 et 20**), ce paramètre a été employé par plusieurs groupes de chercheurs pour présenter leurs résultats, il définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du radical DPPH. (**Athamena, 2009**).

Nous avons calculé l'IC₅₀ pour chaque extrait afin de pouvoir comparer leur pouvoir antioxydant et nous avons obtenu des taux de 0,043 et 0,128 µg/ml respectivement pour *Pleurotus* et *Suillus*.

Dans une étude menée par **Chirinang et Intarapichet (2009)** sur deux espèces de pleurotes ils ont constaté que l'extrait aqueux de *P. ostreatus* a donné une meilleure activité qui s'est traduite par une IC₅₀ de l'ordre de 11,56 mg/ml par rapport à l'extrait aqueux de *P. sajour-caju* qui a donné une IC₅₀ de l'ordre de 11.56 mg/ml et même cette efficacité de ces deux extraits mais ils sont plus faibles que ceux enregistrés dans notre étude. De même les extraits éthanoliques de ces mêmes espèces étudiés ont enregistré des IC₅₀ moins efficaces que les nôtres.

En études les extraits de *Pleurotus eous*, **Sudha et al, (2012)** ont enregistré des taux d'IC₅₀ de 6,3±0,12, 4,2±0,14 et 7,0 ± 0,23 mg/ml respectivement pour les extraits d'éthyle acétate, méthanoïque et d'eau chaude.

conclusion
conclusion



Conclusion

Dans nos travaux, notre intérêt se porte sur l'étude des métabolites secondaires et de l'activité antioxydante des champignons *Pleurotus* et *Suillus*, le nord-ouest de l'Algérie est également une source importante de substances naturelles biologiquement actives.

les métabolites secondaires de 10 g de champignons ont été extraits par macération, en utilisant un solvant hydrométhanoliques (70 % méthanol + 30 % eau), et le rendement de chaque extrait était de 3,9 % et 14,59 %, respectivement.

La recherche quantitative sur les polyphénols totaux en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, le réactif $AlCl_3$ sur les flavonoïdes totaux, et $FeCl_3$ sur les tanins totaux, ce qui nous a conduit à conclure que ces espèces contiennent une grande quantité de polyphénols; Une petite quantité de flavonoïdes; et une petite quantité de tanins totaux. Le potentiel anti-radicalaire des extraits a été mesuré par la méthode DPPH, et les résultats ont montré que ces extraits ont une bonne activité. Par conséquent, ces champignons contiennent des molécules qui sont considérées comme antioxydantes et peuvent être utilisées pour des applications thérapeutiques.

Il est connu que les antioxydants sont efficaces pour prévenir le cancer et les maladies cardiovasculaires, etc...

Sachant que notre pays possède une immense biodiversité, chaque type de champignon se caractérise par une bibliothèque considérable de métabolites secondaires, aux caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques spécifiques, et doit être utilisé par la recherche. Pour cela, nous recommandons :

- Mener des études biochimiques sur les deux espèces étudiées *Pleurotus* et *Suillus*.
- Déterminer que les nouvelles substances bioactives naturelles peuvent faire face à différents problèmes de santé et devenir des alternatives aux drogues synthétiques.
- Développer des médicaments anti-radicalaires à base de plantes ayant une activité antioxydante.
- Lancer des recherches sur d'autres type de champignons sauvages.

References bibliographiques

Acharya, K., (2007). Medicinal properties of mushroom. In: S.N. Acharya and J.E. Thomas, eds. *Advances in Medicinal Plant Research*, Research Signpost, Kerala, India, pp: 215-236.

Aiche-Iratni G. (2016). Activités biologiques, d'intérêt médical, d'extraits de feuilles de *Pistacialentiscus* et d'*Orignummajorana*. Thèse de Doctorat: Microbiologie : Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques Université de Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou.

Alexopoulos C. J., Mims C. W., Blackwell M., (1996). *Introductory Mycology*. 4th Eds. John Wiley and Sons, New York, 869 p.

Ali, H. M. (2012). Contribution à l'étude in vitro de l'effet des extraits de feuilles de *Retama raetam* sur l'activité de l' α -amylase. Table de matière. In These.

Amzal H., (2010). Étude de l'activité antioxydant des saponines du tourteau de l'Arganier. Thèse Doctorat, Université de Rabat, 149p.

Aref M. (2015). Contribution à l'étude phytochimique, les activités biologiques (Antioxydante et Antibactérienne) d'une plante médicinale *Cleome arabica* L (Région d'Oued Souf). universiteechahidhammalakhdar d'el-oued p : 13.

Association A. Française F. Lichénologie L, (2011). Les lichens. Un enjeu pour la biodiversité du Finistère. Ed. Conseil général du Finistère, Service des espaces naturels et des paysages, France, 11p.

Athamena S. 2009. Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *Cuinumcyminum* et les feuilles de *Rosmarinusofficinalis* et l'évaluation de l'activité biologique. Mém .de magister : Biochimie Appliquée. Faculté des Sciencesde l'Université El-HADJ LAKHDAR Batna.

Azzi R., 2013 : Contribution à l'étude de plantesmédicinalesutilisées dans letraitementtraditionnel du diabètesucré dans l'Ouestalgérien : enquêteethnopharmacologique ; Analyse pharmaco-toxicologique de Figuier (*Ficus carica*) etde coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat Wistar. Thèsedoctoratenbiochimie,départementbiologie, Faculté SNV STU, universitéTlemcen(Algérie): 02.

Badalyan S., 2012. Medicinal Aspects of Edible Ectomycorrhizal Mushrooms. In: Zambonelli A., Bonito G. M. (Eds.) *Edible Ectomycorrhizal Mushrooms*, Soil Biology 34, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp. 317- 334.

Bag G.C, Grihanjali D.P, Bhaigyabati T. 2015. Assessment of total flavonoid content and antioxidant activity of methanolic rhizome extract of three hedychium species of Manipur valley. *International Journal of Pharmaceutical sciences Review and Research*.vol. 30, no 28, p.154-159.

Batut L. Le genre ganoderma: approche mycologique médecine traditionnelle et recherches actuelles. 1995. Thèse d'exercice : Pharmacie, Université de Montpellier, n°95.140p.

Belkherroubi-Sari L, Adida H, Seghir A, Boucherit Z et Boucherit K. 2013. New strategy

- Bignell D.E., 2006.** Termites as soil engineers and soil processors. In: König H., Varma A., (Eds.) Intestinal microorganisms of termites and other invertebrates, Springer Berlin, pp. 183-220.
- Biswas, G., S. Sarkar and K. Acharya, 2011.** Hepatoprotective activity of the ethanolic extract of *Astraeus hygrometricus* (Pers.) Morg. Dig. J. Nanomater Bios., 6: 637-641.
- Boubekri C. (2014).** Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse de Doctorat en sciences Spécialité Chimie. Université Mohamed Khider – Biskra . Page 29_51.
- Bouchet P., Guignard J. L., Pouchus Y. F., Villard J., 2005.** Les champignons. Mycologie fondamentale et appliquée. 2ème éd. Ed. Masson, Paris, 191 p. Boudy
- Boudjerda Z. (2013).** Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires de *Achillea ligustica* (Anthemideae) , et *Ranunculus cortusifolius* (Ranunculaceae) .Diplôme de Doctorat d'Etat En Chimie Organique Option: Phytochimie .Université Mentouri-Constantine. 40_41.
- Boudjouref M. (2011).** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Mémoire Pour l'obtention du diplôme de Magister En Biochimie. Université Ferhat Abbas, Setif. 9_28.
- BRAMKI MOUNA ; NEKIA ABDESSAMIE.** Recherche des métabolites secondaires du champignon Algérien *Pleurotus eryngii* et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de master : Biochimie Moléculaire et Santé. Constantine : Université les Frère Mantouri. Algérie. 2016. Page : 5-6,29.
- Breene, W.M., 1990.** Nutritional and medicinal value of specially mushrooms. J. Food. Prot., 53: 883-894.
- Breuil M., 2009.** Biologie, 2ème année BCPST-VETO. Eds. TEC et DOC, Lavoisier, Paris, 818 p.
- Bricaud O., 2006.** Aperçu de la végétation lichénique du site de Saint-Daumas (Var) et de deux stations de la plaine des Maures. Etude réalisée dans le cadre du partenariat entre Tetra Pak et WWF sur la « Protection des forêts méditerranéennes », France, 49p.
- Bruneton J., 2009** : Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 4ème Ed Paris, Lavoisier Tech & Doc.
- Burac M., 2006.** La caraïbe: données environnementales. Séries : Terres d'Amérique. Ed. Karthala, Vol.5, Paris, 463 p.
- Carlile M. J., Watkinson S. C., 1994.** The Fungi. Eds., Academic Press, London, 482 p.
- Chang, R., 1996.** Functional properties of edible mushroom. Nutr. Rev., 54: 91-93.
- Cheung, L.M., Cheung, P.C.K., Ooi, V.E.C., 2003.** Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. Food Chemistry 81, 249–255.
- Chirinang, P., & Intarapichet, K. O. (2009).** Amino acids and antioxidant properties of the oyster mushrooms, *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju*. *Science Asia*, 35(2009), 326-331.

Clesse B. (2011). La biodiversité fongique. L'Érable : revue trimestrielle de la Société royale Cercles des Naturalistes de Belgique asbl. 3ème trimestre, Belgique., 1-12.

Cochran, K.W., 1978. Medical effects of edible mushrooms. In: S.T. Chang and W.A. Hayes, (eds). 16. The biology and cultivation of edible mushrooms. London: Academic Press, pp: 169-185.

Courtecuisse R., 2000. Guide des champignons de France et d'Europe. Eds. Delachaux et Niestlé, Paris, 480p.

Crozier A., Jaganath Ib., Clifford Mn. (2006). Phenols, polyphenols and tannins: An overview. In: Crozier A, Clifford MN, Ashihara H, editors. Plant secondary metabolites: Occurrence, Structure and Role in the human diet. Oxford: Blackwell Publishing Ltd. p. 1–24.

Davet P., 1996. Vie microbienne du sol et production végétale. Ed. INRA, Paris, 383 p

Deray G, Mercadal L et Bagnis C. 2002. Néphrotoxicité de l'amphotéricine B.

Dubois A., Seignobos C., 2005. Petite histoire des connaissances acquises sur les termites et leur rôle agro-écologique. Étude et Gestion des Sols, 12 (2): 153-164.

Durrieu G., 1993. Ecologie des champignons. Ed. Masson, Paris, 207 p.

Eggleton P., 2000. Global patterns of termite diversity. In: Abe T., Bignell D., Higashi M. (Eds.) Termites: evolution, sociality, symbioses, and ecology, Kluwer Academic Publishers Dordrecht, pp. 25-52.

Eggleton P., 2011. An introduction to termites: Biology, Taxonomy and functional Morphology. In: Bignell D. E., Roisin Y., Lo N. (Eds.), Springer Dordrecht Heidelberg London New York, pp. 1-26.

Es-senia, U. D. O. (2014). Étude écologique et taxonomique des champignons forestiers et morphologie des ectomycorhizes du chêne vert dans la wilaya de Relizane . - The task of an ecologist -.

Eyi Ndong H., Degreef J., De Kesel A., 2011. Champignons comestibles des forêts denses d'Afrique centrale. Taxonomie et identification. Abc Taxa 10, Samyn Y., Vanden Spiegel D., Degreef J. (Eds.), 254 p.

Facult, M. C., Cellulaire, B., Domaine, M., Fili, V., Sp, S. B., Mol, B., Mouna, B., Abdessamie, N., Mokrani, M. T. S., Constantine, U. F. M., Constantine, U. F. M., & Constantine, U. F. M. (2016). *Remerciements Louange à dieu qui nous donné la force , le courage et Nous tenons à remercier vivement : Notre encadreur madame TENIOU S pour les conseils et encouragé le long de ce travail*

Fadel K., 2008. La termitière, poumon de la société des termites. Découverte, 354: 19-25.

Falandysz J., Borovička J., 2013. Macro and trace mineral constituents and radionuclides in mushrooms: health benefits and risks. Appl. Microbiol. Biotechnol., 97: 477-501.

Fisher BD et Armstrong D. 1977. Rapid microdilution-colorimetric assay for yeasts susceptibility to fluorocytosine. Antimicrob Agents Chemother, 12 : 614-617. Enhancing the therapeutic index of Fungizone((R)). J Mycol Med, 23 : 3-7.

Fortin J., Fortin F., Batigne S., Cailliau J., Gardner J., Tremblay A., Ahern J-Y., Bertoni M., Buffot S., Gardner J., Lalumière M., Lévesque R., Lemire A., Martin R., Vézina G., Cimon M-N., Fréchette N., LeGuerrier J-E., Quinty D., Noiseux J., Brouillet L., Bruneau A., Geitmann A., Parenteau M., Rivoal J., 2006. Les plantes : comprendre la diversité du monde végétal. Eds. Québec Amérique Inc., Canada, 128 p.

Gąsecka, M., Mleczek, M., Siwulski, M., & Niedzielski, P. (2016). Phenolic composition and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* enriched with selenium and zinc. *European Food Research and Technology*, 242(5), 723-732.

Gbolagade, J., A. Ajayi, I. Oku and D.Wankasi, 2006. Nutritive value of common edible mushrooms from Southern Nigeria. *Global J. Biotech. Biochem.*, 1: 16-21.

Gruen, E.H. and M.W. Wong, 1982. Distribution of cellular amino acids, protein and total organic nitrogen during fruit body development in *Flammulina velutipes*, *Can. J. Biol.*, 60: 1330-1341

Guedegbe H.J., 2008. Diversité, Origine et Caractérisation de la Mycoflore des Meules de Macrotermitinae (Isoptera, Termitidae). Thèse de doctorat. Univ. Paris Est, France, 126 p.

Guessoum D. (2015). Contribution à l'étude phytochimique des flavonoïdes Chez *Urticadioica* L. et évaluation de leur Pouvoir antibactérien. Mémoire de master, université de Constantine 1.p :40.

Gupta R., 2004. A text Book of Fungi. Ed. Efficient Offset Printers, New Delhi, India, 343p.

Harrar A. (2012). Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Diplôme de Magister Biochimie et physiologie expérimentale. Université Ferhat Abbes-Sétif.8_31.

Hawksworth D. L. (2001). The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycological Research* 105:1422-1432.

Hennebelle T., 2006 : Investigation chimique et chimiotaxonomique et pharmacologique de *Lamiales* productrices d'antioxydants. *Marrubi um peregrinum*, *Bal iota larendana*, *Ballota Pseudodictamnus* (Lamiacées) et *Lippia alba* (Verbenacées). Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat Chimie Organique et Macromoléculaire. Université des Sciences et Technologique de Lille, Lille L Ecole Doctorale Sciences de la Matière du rayonnement et de l'Environnement. France.

Hibbett DS, Binder M, Bischoff JF, Blackwell M, Cannon PF, Eriksson OE, Huhndorf S, James T, Kirk PM, Lücking R, Thorsten Lumbsch H, Lutzoni F, Matheny PB, McLaughlin DJ, Powell MJ, Redhead S, Schoch CL, Spatafora JW, Stalpers JA, Vilgalys R, Aime MC, Aptroot A, Bauer R, Begerow D, Benny GL, Castlebury LA, Crous PW, Dai YC, Gams W, Geiser DM, Griffith GW, Gueidan C, Hawksworth DL, Hestmark G, Hosaka K, Humber RA, Hyde KD, Ironside JE, Koljalg U, Kurtzman CP, Larsson KH, Lichtwardt R, Longcore J, Miadlikowska J, Miller A, Moncalvo JM, Mozley-Standridge S, Oberwinkler F, Parmasto E, Reeb V, Rogers JD, Roux C, Ryvarden L, Sampaio JP, Schussler A, Sugiyama J, Thorn RG, Tibell L, Untereiner WA, Walker C, Wang Z, Weir A, Weiss M, White MM, Winka K, Yao YJ et Zhang N. 2007. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycol Res*, 111: 509-547.

Ito, T., Kato, M., Tsuchida, H., Harada, E., Niwa, T., & Osawa, T. (2011). Ergothioneine as an anti-oxidative/anti-inflammatory component in several edible mushrooms. *Food Science and Technology Research*, 17(2), 103–110. <https://doi.org/10.3136/fstr.17.103>

Iwalokun B., Usen. U, Otunba.A, Olukoya.D.2007.Comparative phytochemical evaluation, antimicrobial and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus*. *African Journal of Biotechnology*, vol. 6, no 15, p. 1732-1739.

Jacob M., 2005. Travail exploratoire sur la valorisation d'une ressource forestière non ligneuse: Les champignons sylvestres du massif d'Annot. Mém. de fin d'étude, Univ. Limoges, France, 54 p.

Kalaè, P., 2009. Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review. *Food Chem.*, 113: 9-16.

Kansole M.R., 2009 : Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiales du Burkina Faso : cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia oppositifolia* et *Orthosiphon pallidus* Royle ex Benth. Mémoire pour obtenir un diplôme d'étude approfondie (D.E.A) en sciences Biologiques appliquées, Burkina Faso.

Karabin M., Tereza Hudcova., Lukas Jelinek et Pavel Dostalek. (2015). Biotransformations and biological activities of hop flavonoids. Department of Biotechnology, Faculty of Food and Biochemical Technology, University of Chemistry and Technology, Prague, Technická 5, 166 28 Prague 6, Czech Republic.

Karaman, I., F. Sahin, M. Gulluce, H. Ogutcu, I.M. Hsengu and A. Adiguzel, 2003. Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L., *J. Ethnopharmacol.*, 85: 213-235.

Katarzyna Kała, Agata Krakowska, Katarzyna Sulowska-Ziaja, Agnieszka Szewczyk, Witold Reczyński, Włodzimierz Opoka & Bożena Muszyńska (2017) Kinetics of extracted bioactive components from mushrooms in artificial digestive juices, *International Journal of Food Properties*, 20:8, 1796-1817, DOI: 10.1080/10942912.2016.1219742

Kissoum A., Khalfaoui K (2015). Evaluation phytochimique et étude des activités biologiques d'une plante médicinale Algérienne (*Foeniculum vulgare*) université de Constantine 1. p : 7.

knudsen henning et petersen. jen h. les champignons dans la nature. France. (2005). delachaux la nestlé. p 307.

Lamarti A., Badoc A., Deffieux G et Carde J. (1994). Biogénèse Des Monoterpènes La Chaîne Isoprénique. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*. 133 : 79 – 99.

Lefebvre T., 2008. Associations biologiques entre les termites du genre *Nasutitermes* et leur microflore actinomycétale: spécificité et évolution. Thèse Doctorat. Univ. Paris Est, France, 164 p.

Lemoine C., Claustres G., 2002. Mieux connaître les champignons. Eds. Gisserot J-P, France, 128 p.

Lindequist U, H. J Niedermeyer T, Wolf-Dieter J. The Pharmacological Potential of Mushrooms. *eCAM*, vol.2, no 3, p.285–299.

Lüttge U., Kluge M., Bauer G., 2002. Botanique. 3ème éd. Eds. TEC et DOC, Lavoisier, Paris, 604 p. Lutzoni

Lutzoni F., Kauff F., Cox C.J., McLaughlin D., Celio G., Dentinger B., Padamsee M., Hibbett D., James T.Y., Baloch E., Grube M., Reeb V., Hofstetter V., Schoch C., Arnold A.E., Miadlikowska J., Spatafora J., Johnson D., Hambleton S., Crockett M., Shoemaker R., Sung G.H., Lücking R., Lumbsch T., O'Donnell K., Binder M., Diederich P., Ertz D., Gueidan C., Hansen K., Harris R.C., Hosaka K., Lim Y.W., Matheny B., Nishida H., Pfister D., Rogers J., Rossman A., Schmitt I., Sipman H., Stone J., Sugiyama J., Yahr R., Vilgalys R., 2004. Assembling the fungal tree of life: progress, classification, and evolution of subcellular traits. *Am. J. Bot.*, 91: 1446–1480.

Malešev D., Kuntić V., 2007: Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the Serbian chemical society*; 72(10): 921-939.

Moreau P. A., Daillant O., Corriol G., Gueidan C., Courtecuisse R., 2002. *Renecofor - Inventaire des champignons supérieurs et des lichens sur 12 placettes du réseau et dans un site atelier de l'INRA/GIP ECOFOR – Résultats d'un projet pilote (1996-1998)*. Office National des Forêts, Fontainebleau, France, 142 p.

Nabors M., 2008. *Biologie végétale. Structures, fonctionnement, écologie et biotechnologies*. Ed. Pearson Education France, Paris, 614 p.

Pelli et Marika Lyly., 2003. Les antioxydants dans L'alimentation. *Biotechnology Finlande*. Project n° QLK1-CT - 2000 – 00040.17p.

Raven P. H., Johnson G. J., Mason K. A., Losos J. B., Singer S. S., 2011. *Biologie*. 2ème édition. Ed. De Boeck, Bruxelles, 1406p.

Raven P. H., Johnson G. J., Mason K. A., Losos J. B., Singer S. S., 2011. *Biologie*. 2ème édition. Ed. De Boeck, Bruxelles, 1406p.

Raven PH, Evert, R.F., Eichhorn, S.E. 2000. *Biologie végétale*. De Boeck Université, Paris, France, 944 p.

Redecker D., 2002. New views on fungal evolution based on DNA markers and the fossil. *Research in Microbiology*, 153: 125-130.

Redeuilh (1992). *Suillus mediterraneensis* (Jacquetant & J. Blum), *Documents mycologiques*, 22(86), p. 40.

Ripert C. 2013. *Mycologie médicale*. Lavoisier, 750 p.

Rolland Y., 2004. Antioxydants naturels végétaux. *OCL vol. 11 N° 6*, 419-429.

Rouland-Lefevre C., Bignell D.E., 2001. Cultivation of symbiotic fungi by termites of the subfamily Macrotermitinae. In: Abe T., Bignell D., Higashi M. (Eds.) *Symbiosis: Mechanisms and model systems*, Kluwer Academic Publishers Dordrecht, pp. 731-756.

Rouland-Lefevre C., Inoue T., Johjima T., 2006. Termitomyces/Termite interactions. Part II termites as model organisms. In: König H., Varma A. (Eds.) *Intestinal*

Sawangwan, T., Wansanit, W., Pattani, L., & Noysang, C. (2018). Study of prebiotic properties from edible mushroom extraction. *Agriculture and Natural Resources*, 52(6), 519–524. <https://doi.org/10.1016/j.anres.2018.11.020>.

ScienceDirect The beneficial role of edible mushrooms in human health. *Current Opinion in Food Science*, 14, 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.04.002>.

Senn-Irlet B., Egli S., Boujon C., Küchler H., Küffer N., Neukom H-P., Roth J-J., 2012. Protéger et favoriser les champignons. Notice pour le praticien (49), Birmensdorf, Suisse, 12p.

Sicard M., Lamoureux Y., 2006. Connaître, cueillir et cuisiner les champignons sauvages du Québec. Ed. Fides, Québec, 365p.

Smith S. E., Read D. J., 1997. Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, Cambridge, 605p.

Smith S. E., Read D. J., 2008. Mycorrhizal Symbiosis, «Third Edition». Academic Press: Amsterdam, The Netherlands and Boston, USA., 800 p.

Société canadienne du cancer. 2015. Effets secondaires de la chimiothérapie.

Sudha, G., Vadivukkarasi, S., Shree, R. B. I., & Lakshmanan, P. (2012). Antioxidant activity of various extracts from an edible mushroom *Pleurotus eous*. *Food Science and Biotechnology*, 21(3), 661-668.

Sugar AM. 1995. Use of Amphotericin B with Azole Antifungal Drugs : What Are We Doing ? *Antimicrob Agents Chemother*, 39 : 1907-1912.

Svoboda K.P et Hampson J.B., 1999. Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK., KA6 5HW, 1-17.

Thaung M. M., 2007. A preliminary survey of macromycetes in Burma. *Australasian Mycologist*, 26 (1): 16- 36.

Unekwu, H. R., Audu, J. A., Makun, M. H., & Chidi, E. E. (2014). Phytochemical screening and antioxidant activity of methanolic extract of selected wild edible Nigerian mushrooms. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(S1).

Uva P., 2000. Relations phylogénétiques chez les termites du genre *Reticulitermes* en Europe. Description d'une nouvelle espèce. Thèse Doctorat. Université François Rabelais, Tours, France, 62 p.

Vust M., Arx B. V., 2006. Les lichens terricoles du canton de Genève. Inventaire, liste rouge et mesures de conservation. Domaine nature et paysage, Version 1.1, Genève, Suisse, 26 p.

Walton N., Brown D. (1999). Chemical from Plants: Perspectives on plant secondary products; Ed: world scientific. 43 : 1-14.

Wang Y., Cummings N., Guerin-Laguette A., 2012. Cultivation of Basidiomycete Edible Ectomycorrhizal Mushrooms: *Tricholoma*, *Lactarius*, and *Rhizopogon*. In: Zambonelli A.,

Bonito G.M. (Eds.), Edible Ectomycorrhizal Mushrooms, Soil Biology 34, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp. 281-304.

Wang, Q., Wang, F., Xu, Z., Ding, Z., 2017. Bioactive mushroom polysaccharides: a review on monosaccharide composition, biosynthesis and regulation. *Molecules*22, 1e13.

Wasser S. P., 2002. Medicinal mushrooms, as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 60: 256-274.

Wasser, S.P., Weis, A.L., 1999. Medicinal properties of substances occurring in higher basidiomycetes mushrooms. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 1, 31–62.

Yao L., Jiang Y., Shi J., Tomas B., Datta N., et Al. (2004). Flavonoids in food and their health benefits. *Plant foods Hum Nutr*59: 113-122.

YIM H.S, Chye F.Y, Ho1 S.K, Ho C.W. 2009. Phenolic profiles of selected edible wild mushrooms as affected by extraction solvent, time and temperature. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*. vol. 2, no 03, p392-40.

Zaremski A., Fouquet D., Louppe D., 2009. Les termites dans le mode. Guide pratique. Eds. Quae, Versailles, France, 93 p.

Web bibliographiques :

<http://www.ikonet.com/fr/ledictionnairevisuel/regne-vegetal/champignon/structure-un-champignon.php> consulté le 22/05/2021

http://www2.ville.montreal.qc.ca/jardin/jeunes/naturaliste/coloriages/champignon_parties.htm consulté le 24/05/2021

https://fr.wikipedia.org/wiki/Pleurotus_eryngii consulté le 30/06/2021

<https://boletales.com/genera/suillus/s-mediterraneensis/> consulté 30/06/2021

<https://www.marshallscientific.com/Buchi-R-210-Rotavapor-System-p/bu-> consulté le 23/05/2021

ANNEXE

Annexe 1 : Liste des champignons avec un potentiel anticancéreux

Agaricusbisporus, Agaricusblazei, Agaricussubrufescens, Agrocybeaegerita, Antrodiacamphorata, Antrodiacinnamomea, Auricularia judae, Boletus aerus, Boletus edulis, Boletus erythropus, Boletus granulatus, Bondarzeuria montana, Calvatiacraniiformis, Cantharelluscibarius, Cantherellustubaeformis, Cerocorticiumconfluens, Cheimonophyllumcandissimum, Collybiaconfluens, Collybia maculata, Coprinusepiscopalis, Coprinushepthemerus, Cordycepsmilitaris, Cordyceps sinensis, Coriolusversicolor, Cortinariussp, Crepidatusfrelvotomntosur, Crinipellisstipitarius, Dacrymycessp, Dictyophoraindusiata, Entolomaclypeatus, Favolashiapustulosa, Fistulinahepatica, Flagelloscyphapilatii, Flamulinavelutes, Fomesfomentarius, Funghuhnianitida, Ganodermaapplanatum, Ganodermaconcinnum, Ganoderma lucidum, Ganodermat sugae, Gerronema, Gloephyllum, Grifolafrondosa, Grifolaumbellata, Gymnopilusspectabilis, Hemimycenacucullata, Hericiumerinaceus, Hohenbuehelia, Hydnumrepandum, Hyphodentia, Hypsizygusmarmoreus, Hypsizygustossulatus, Inerustaporiacarneola, Inonotusobliquus, Inonotusradiatus, Irpexlacteus, Kuehneromyces, Laccariaamethystea, Laccarialaccata, Lachnellavillosa, Lactariusdeliciosus, Lactariuslignydus, Lactariuspiperatus, Lactariusuvidus, Lactariusvellereus, Lactiporusulphureus, Lampteromycesjaponicum, Lentinellusomphalades, Lentinellusursinus, Lentinusadhaerens, Lentinuscrinitus, Lentinusedodes, Lepista inversa, Lepistasordita, Leucopaxillusgentianeus, Limacellalenticularis, Lycoperdon piriform, Macrocystidiacucumis, Marasmiussp., Merismodesanomalous, Meruliustremellosus, Miopelatum, Mycenaleiana, Mycenapura, Mycena tintinnabulum, Nidulariapulvimata, Omphalatalapidescens, Omphallatusilludens, Omphallatusolearius, Oudamensiellamucida, Panaellusretirugis, Panus rudis, Panus sp, Peniophoralaeta, Perenniporiamedulla panis, Phallus impudicus, Phellinusgilvus, Phellinusigniarius, Phellinusrimosus, Phellodonmelaleucus, Pholiotadestruens, Pisolithustinctoris, Pleurotellus hypnophilus, Pleurotus citrinopileatus, Pleurotus cornupia, Pleurotusdjamor, Pleurotus eryngii, Pleurotus gesteranus, Pleurotus japonicus, Pleurotus ostreatus, Pleurotus pulmonarius, Pleurotus tuber regium, Podoscypha, Polyporusumbellatus, Poria cocos(wolfiporia), Psalliotacampestris, Pterula, Punctulariaatropurpurascens, Resiniciumpinicola, Resupinatusleightonii, Russulacyanoxantha, Russulaemetica, Russulafoetens, Russulanigricans, Sarcadenleucoporus, Sarcodon asparatus, Sartigerconfluens, Schizophyllum commune, Sclerodermacitri, Sparassis crispa, Strobiloriustonacellus, *Suillus*granulatus, Tremellafuciformis, Tricholomamatsutake Tricholomasaponaceum, Tricholomopsisrutilans, Tremescushelvelloides, Volvariavolvacea. Xerocomusnigomaculatus, Xerulamalanotricha

Annexe 02

Tableau : méthode de dosage des polyphénols totaux

	La gamme d'étalon (acide gallique)							Extrais (1 mg/ml)		
								Extrait EB	Extrait AE	Extrait n-B
Acide gallique (µg/ml)	Blanc	25	100	200	300	400	500	-	-	-
Acide gallique(ml)	-	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	-	-	-
Eau distillée (ml)	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extrais (ml)	-	-	-	-	-	-	-	0.1	0.1	0.1
Na ₂ CO ₃ (2%) ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Agitation et incubation pendant 5 min										
Folin-Ciocalteu (IN) (ml)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Incubation à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant 30 min										
Mesure de l'absorbance à 700 nm										

Les résultats sont exprimés en microgramme Equivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait sec (µg Eq AG/mg ES).

Annexe03

Tableau : méthode de dosage des flavonoïdes totaux

	La gamme d'étalon (catéchine)										Extraits (1mg/ml)		
	blan	1.25	2.5	25	50	100	200	300	400	500	eb	ae	n-b
(catéchine) $\mu\text{g/ml}$	blan	1.25	2.5	25	50	100	200	300	400	500	-	-	-
Catéchine(μl)	-	250	250	250	250	250	250	250	250	250	-	-	-
Extrait (μl)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	250	250	250
Eau distillé(μl)	1250	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
NaNO ₂ (15%)(μl)	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75
1 ^{ere} incubation pendant 6min à température ambiante													
ALCL ₃ (10%)(μl)	7575	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75
2 ^{eme} incubation pendant 6min à température ambiante													
NaOH(4%)(μl)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Eau distillée(μl)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
3 ^{eme} incubation à l'obscurité pendant 30 min													
Mesure de l'absorbance à 510 nm													

Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait sec ($\mu\text{g Eq C/mg ES}$).