



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Microbiologie appliquée
Réf. :

Présenté et soutenu par :
BAHZAZ NOUR

Le : jeudi 8 juillet 2021

Thème

Activité Antimicrobienne des extraits de Terfès: Revue de la littérature

Jury :

Mme. Aouragh Hayat	MAA	Université de Biskra	Président
Mr. Benmaddour Tarek	MCA	Université de Biskra	Rapporteur
Mme .Gaouaoui Randa	MCB	Université de Biskra	Examinatrice

Année universitaire : 2020 - 2021

REMERCIEMENTS

Avant tout, mes remerciements infinis sont adressés à « Dieu le Tout Puissant » de m'avoir donné le courage et la santé pour achever ce travail.

Mes vifs remerciements et ma profonde gratitude s'adressent à mon promoteur Mr. Benmeddour .T pour avoir suivi et dirigé ce travail. Je le remercie infiniment pour son aide, ses conseils, ses orientations et sa correction sérieuse.

Je le remercie pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury.

Mes remerciements vont également à et d'avoir bien voulu faire partie des membres du jury. A tous les enseignants du département de Biologie nous leur adressons nous s'incères remerciements pour leurs patiences et pour tout ce qu'ils nous ont offerts comme enseignements et conseils durant ce long cycle d'étude.

Enfin, je remercie tous ceux qui m'ont aidé de près et de loin pour la réalisation de ce travail.

DÉDICACES

Je dédie ce modeste travail à :

Mes chers parents pour leurs soutiens, leurs aides et leurs patiences
durant toutes les années de mes études. Alors je profite cette occasion
pour les remercier pour tout ce qu'ils ont fait pour moi

Mes sœurs et mes frères

Toute ma grande famille,

Mes amis qui me connaissent de près et de loin

Mes camarades de la promotion 2021

TABLE DES MATIERE

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale11

Chapitre 1: Synthèse bibliographique.....11

1. Généralités sur la truffe11

2. Origine et historique11

2.1. Epoque grec11

2.2. Epoque romaine11

2.3. Epoque moderne12

3. Biologie de terfez.....12

3.1. Partie végétative.....12

3.2. L'asqocarpe forme sexué.....12

4. Répartition géographique.....13

5. Moyen d'identification de truffe.....14

6. Paramètre biécologique.....16

6.1. Climat.....16

6.2. Sol.....17

7. Cycle biologique.....17

DEUXIEME PARTIE : PARTIE PRATIQUE

Revue de la littérature : Synthèse de 8 travaux scientifiques réalisés sur l'activité antibactérienne des différents extraits de quelques espèce du genre *Terfezia*

Chapitre 2: Matériel et méthodes

1.Type de truffe.....	21
2. Zone et date de récolte	21
3. Préparation de l'extrait	22
4. Espèces des microorganismes.....	25
5. Essai antimicrobienne	28
Chapitre 3: Résultats et discussion.....	33
Conclusion	39

Références

LISTE DES ABREVIATION

Gr : Grossissement

MS : Matière sèche

ITS: internal transcribed spacer

CMI: concentration minimale inhibitrice

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Les différents sols de développement du terfès

Figure 2. Cycle biologique de la truffe

Figure 3. Zone d'inhibition (cm) induite par les extraits acides de *Tirmania pinoyi* et *Terfeziacleveyi* contre les bactéries phytopathogènes Gram-positives et Gram-négatives de la tomate.

Figure 4. Activité antibactérienne (concentration minimale inhibitrice, mg/ml) des extraits de *T. boudieri* truffle

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Type de truffes étudié

Tableau 2. La zone et la date de récolte

Tableau 3. Préparation de l'extrait de truffe

Tableau 4. Espèces des microorganismes

Introduction générale

La truffe du désert, appelée régulièrement «Terfes», est un champignon symbiote avec les Hélianthèmes, demeure encore une empreinte mystérieuse, mais aussi le témoin d'une adaptation étonnante aux conditions du désert, assurant une association biologique très particulière. Quelle que soit l'espèce de Terfes, elle reflète le champignon hypogé comestible, non seulement appréciée par la population locale, mais présente également une notoriété mondiale du fait qu'elle soit très recherchée et considérée comme étant une denrée alimentaire de luxe (**Bradai, 2006**).

Les travaux de recherche sur Terfes dans le sud algérien sont peu nombreux, on trouve des études écologiques et mycorhization des diverses espèces de Terfes avec des plantes ; on cite **Fortas(1990); Sadat(1994); Tadj. (1996); Bassah(1999); Bradai (2006)**. une recherche du pouvoir antibactérien et antifongique de certaines espèces de Terfez (*Tirmania pinoyi*) (**Amara et Amire, 2007; Dib et al., 2013; Neggazet al., 2016**). De nombreux champignons supérieurs ont un intérêt en nutrition et en santé humaine. Plus de 2000 espèces sont comestibles, et près de 700 espèces possédant des propriétés pharmaceutiques intéressantes (**Wasser, 2002 ;Wasser, 2010**).

Les vertus médicinales des champignons supérieurs sont connues depuis des millénaires, notamment par la médecine asiatique. Quant à la mycothérapie, ce traitement par les champignons a émergé dans les années 70, 80 et depuis, des centaines de travaux réalisés par les chercheurs asiatiques ont confirmé son intérêt. Actuellement, la mycothérapie est reconnue dans le monde entier puisqu'on étudie les propriétés médicinales étonnantes des champignons en particulier, dans le traitement des maladies dégénératives et du cancer mais aussi pour d'autres pathologies. Les recherches sont surtout orientées sur leur activité antioxydant en raison de son rôle dans la prévention des maladies chroniques telles que les pathologies cardio-vasculaires, le cancer, le diabète, l'hypertension artérielle, et les maladies d'Alzheimer et de Parkinson en combattant le stress oxydatif (**Riboli et Norat, 2003; Cole et al., 2005**).

Dans notre présente étude, nous sommes intéressés à l'étude de l'activité antimicrobienne de quelques espèces de terfes.

CHAPITRE 1

SYNTHESE

BIBLIOGRAPHIQUE

1. Généralités des truffes

La truffe est un champignon Ascomycète hypogé, à aspect arrondi mais peut être irrégulier selon la nature du terrain (**Riousset et al., 2001**). Le cycle biologique de la truffe est particulier; comme tout champignon, la truffe n'as pas de fonction chlorophyllienne, elle vit en symbiose avec une espèce végétale. C'est donc grâce à son système végétatif, le mycélium, que la truffe va chercher un plant hôte nourricière (**Riousset et al., 2001; Pargney, 2004**). La rencontre des radicelles de la plante hôte et du mycélium donne naissance à un organe mixte: la Mycorhize. Cette symbiose mycorhizienne permet à la truffe d'obtenir dans la plante les substances organiques indispensables à son développement (**Fortin et al., 2008**).

On distingue deux catégories de truffe :

- Les truffes du genre *Tuber*.
- Les truffes du désert qui regroupent les genres *Terfezia*, *Tirmaniaet Picoa* (**Fortas, 1990; Fortas et Chevalier, 1992; zitouni-Haouar et al., 2015**)

2. Origine et historique

La truffe est un champignon connu et consommé depuis la haute antiquité, par les Grecs et Romains, la truffe est l'un des produits naturels du Sahara ; produite par le sable du désert sans intervention de l'homme. Le mot « terfès » et le mot français « truffe » ont une même origine. Ils viennent tous deux de « Tabarli » ; nom apparu aux alentours de 3500 année A. JC dans le langage sumérien qui signifiait « champignon souterrain » (**Bradai., 2006**).

2.1. Époque Grecs

Selon certains historiens, les premières apparitions de la truffe remontent à l'époque mésopotamienne. Au IVème siècle, Théophraste s'intéresse aux mécanismes de la vie de la truffe et en découvre l'essentiel. Il affirme aussi que, pour naître, la truffe a besoin de semences, de pluie en été et de coups de tonnerre.

2.2. Époque Romaine

Les romains connaissaient une grande variété de truffes. Curieusement, alors que chez eux poussaient les deux meilleures espèces : la *Melanosporum* et la *Magnatum*, ils ne consommaient qu'une variété de champignons ressemblant aux truffes : les Terfès qu'ils importaient d'Afrique du Nord. Plus étonnant encore est l'usage qu'ils en faisaient : à l'inverse de ce qu'on pourrait imaginer, ils l'utilisaient non pas pour son parfum... mais comme support d'autres substances plus aromatiques! Il est vrai que la cuisine romaine faisait l'objet d'une véritable surenchère d'épices et qu'à cet égard, les Terfès, qui n'ont aucun goût, peuvent en revanche, dans certaines préparations, se transformer en réservoirs de saveurs.

2.2. Époque moderne

C'est grâce au procédé de conservation inventé par l'appertisation et au développement des moyens de transport que la truffe va, peu à peu, apparaître dans les magasins d'alimentation et dans les restaurants. Au lendemain de la seconde guerre mondiale, la truffe entre dans une période de réelle pénurie. Les prix, d'un coup, se sont mis à grimper en flèche, plaçant la truffe au rang des produits les plus luxueux. Devenue trop chère pour servir, comme par le passé, à décorer un plat ou à "l'enrichir".

3. Biologie de Terfès

3.1. Forme de croissance de la truffier (Anatomie structurale)

3.1.1. Partie végétative

La partie végétative est très discrète et non comestible qui s'associe avec les racines de certains arbres. Cette partie est constituée de mycélium. De mycorhizes et de stromas; ces différentes formes sont reliées de façon complexe entre elles et avec le système racinaire (Ricard, 2003).

➤ Mycélium

Désigne l'ensemble des filaments, appelés hyphes, constituant un même organisme les filaments mycéliens s'organisent pour constituer des structures plus complexes élaborées par la truffe; Mycorhize; Stroma et Ascocarpe (Ricard, 2003).

➤ **Stroma**

Les filaments mycéliens peuvent s'agglomérer en pelotes denses qualifiées de stroma. Ces stroma sont des "faux tissus", formés par la soudure des filaments. Les stromas sont constitués d'hyphes agrégées en contact direct avec les cellules de l'écorce de la racine et se retrouvent dans le sol.

➤ **Mycorhizes**

La Mycorhize est un organe mixte formé par l'association entre une racine et un champignon du sol, elles favorisent l'absorption par les racines des éléments minéraux de la Rhizosphère et du sol et améliorent ainsi la nutrition de la plupart des espèces végétales (Ricard, 2003).

3.1.2. L'ascocarpe "Forme sexuée"

L'ascocarpe est constitué de filaments mycéliens organisés et spécialisés. La partie externe est appelée **Péridium**, partie centrale ou **Gléba** est à l'origine des asques et des spores.

➤ **Péridium**

Péridium une structure résistante qui assure la protection de Gléba interne; peut présenter des écailles de dimension et de forme très différentes. Au niveau des écailles du Péridium; il se forme des houppes de filaments mycéliens qui jouent un rôle actif dans les échanges nutritionnels entre le champignon et le sol. On peut observer également en surface du Péridium, la formation de plaque calcaire d'une centaine de μm , provenant de précipitations de carbonates de calcium dues à des sécrétions acides par les filaments mycéliens.

Ces phénomènes protègent progressivement l'ascocarpe de la dessiccation et lui donnent une excellente résistance à la sécheresse (Ricard, 2003).

➤ **Gléba**

C'est la partie centrale; qu'est l'origine des asques et les spores; elle constitue la masse interne de l'ascocarpe dont la coupe révèle; à maturité la présence "de marbrures" ou lignes sinuées blanches appelées "veines". Ces veines sont variables selon les espèces, ont reçu

également le nom de "veines aérifères" ou "veines stériles " car elles ne contiennent jamais de spores ces veines remplies d'hyphes qui s'allongent, se ramifient et s'apparient entre elles pour former un véritable réseau mycélien; c'est l'hyphes est facilement visibles à la surface de truffes matures; ces veines s'ouvrent à l'extérieur au niveau des écaillés du Péridium de la truffe. Ou elles permettent les échanges gazeux entre la gleba du champignon et le sol (oxygène, gaz carbonique, vapeur d'eau) (**Ricard, 2003**).

La structure anatomique de Terfez n'est plus différente de celle de genre *Tuber* (**Fahrettin et Basaran, 1997; Bradai, 2006**).

Les deux genres de Terfes reconnus sont répartis essentiellement sur le pourtour du Bassin méditerranéen et dans zones arides sèches du Moyen Orient: en Afrique du Nord, dans le sud de l'Europe, approximativement entre le 28^{ème} et le 45^{ème} degré de latitude Nord (**Sadat, 1994**).

4. Répartition géographique

La répartition géographique des Terfes se situe dans la région méditerranéenne et les zones semi arides et arides ou même à climat subsaharien. Approximativement entre le 28^{ème} et le 45^{ème} degré de latitude Nord (**Chatin, 1891 ; Trappe, 1990**).

En Afrique du Nord

En Algérie, on trouve les trois(03) genres

- *Terfezia* (*Terfezia claveryi*, *Terfezia boudieri*, *Terfezia arenaria*)
- *Tirmania* (*Tirmania pinoyi*, *Tirmania nivea*)
- *Picoa* (*Picoalefebvrei*, *Picoajuniperi* et *Picoacarthusiana*).

Ces espèces sont retrouvées dans les régions de Béchar (Kenadssa, Taghit, Tabelbala, Abadla, Beni Abbas), Tindouf, Timimoune, Ouargla (Oued Mya), Touggourt, Tamanrasset (Montagnes du Hoggar), Ghardaïa, Biskra, Batna, Djelfa, Saida, Boussaâda, Mécherai, Naama, Laghouat (**Chatin, 1891 ; Fortas, 1990 ; Fortas et Chevalier, 1992**).

En Tunisie, les Truffes du désert se trouvent surtout dans le centre et le Sud du pays. Quatre (04) espèces de Terfes dont l'une appartient au genre *Terfes* sont identifiées, il s'agit

de *Terfezia Boudieri*, *Tirmania Nivea*, *Tirmania Pinoyi*, *Picoa Carthusiana* (Chevalier et al., 1984 ; Slama et al., 2006 ; Khabar, 2005).

Au Maroc, trois zones truffières sont identifiées, elles sont situées au nord-ouest (forte de Maàmora) ou centre ouest (plaine de Abda) et dans l'Est du pays (zones des hauts plateaux du Maroc oriental). Il existe des différents genres de Terfes: *Delastria*, *Picoa*, *Terfezia*, *Tirmania* (Khabar et al., 1994; Khabar et al., 2001).

6. Les moyens d'identification des truffes (taxons et mycorhizes)

Les méthodes traditionnelles d'utilisation courante, opérateur dépendantes: L'examen morphologique à l'œil nu, à la loupe (les verrues) des diverses parties du taxon. L'appréciation de l'odeur, du goût (propriétés organoleptiques). La prise en compte du lieu du ramassage, de la période de l'année. L'examen des spores en microscopie optique. Les méthodes instrumentales « objectives », non opérateur dépendantes, mais de mise en œuvre lourde. L'examen ultra structural (microscopie électronique à transmission et surtout à balayage, ce dernier en particulier pour les spores). Le microscope confocal (pour le caryotype). Les examens biochimiques (données des isoenzymes en particulier). La biologie moléculaire : très grande sensibilité et spécificité, avec diverses modalités possibles de caractérisation du génome. On doit toutefois souligner que les particularités d'une espèce ne pourront être établies et devenir diagnostiques que si des exemplaires de cette espèce ont été préalablement reconnus et identifiés sans réserves par la communauté scientifique ! Les moyens accessoires non encore parfaitement validés (propositions disparates). Analyse des effluves par chromatographie chirale couplée à l'adsorption (Doumenc-Faure). Transfert des arômes dans un lipide, extraction en boucle fermée par le CO₂ supercritique, puis analyse des effluves par chromatographie en phase gazeuse. Référentiel « le champ des odeurs » : chromatographie puis « sniffing » des composés, essai de corrélations odeur-composé volatile. Caractérisation des phéomélanines de *T. melanosporum*. Détermination objective et quantitative de la couleur des truffes pour définir des stades de maturité : système CIELAB et système COLORVISION (couleurs « non uniformes »). Aperçu sur la biologie moléculaire.

Elle permet de retrouver les caractéristiques propres à un individu ou à une lignée génétique (espèce) en identifiant certaines particularités du génome cellulaire (typage moléculaire). On utilise pour cela l'ADN ou l'ARN en se servant des amorces de séquences moléculaires (primers) spécifiques, et voulue. permettant d'amplifier par des techniques de

PCR (polymerase chain reaction) la séquence voulue. Pour les truffes, on a amplifié puis analysé des régions ITS (internal transcribed spacer) de l'ADN étudiés ribosomal ensuite. et de l'ADN total, ce qui a fourni des critères surs pour l'identification des taxons étudié .Parmi les résultats obtenus par ces méthodes on a pu constater (Grande boeuf) que trois espèces présentent une homogénéité génétique parfaite : *T. melanosporum*, *aestivum* et *brumale*. D'autres espèces pourraient correspondre à des formes ou variétés quasi identiques à ces trois, car il est impossible de les en différencier par les méthodes moléculaires : *T. melanosporum* proche de *T. hiemalbum* (et assez proche de *T. indicum* !) *T. aestivum* proche de *T. uncinatum* (et proche de *T. mesentericum*) *T. brumale* proche de *T. brumale* var. *moschatum* Autre conclusion ; *T. borchii* (proche de *T. maculatum*) présenterait à l'inverse une variabilité intra spécifique importante. On retrouve donc en ce qui concerne la truffe les deux méthodes usuelles d'identification :

— identification traditionnelle du phénotype, c'est à dire l'aspect de l'individu mature : macroscopie, odeur, saveur, microscopie.

— identification du génotype par la biologie moléculaire, qui sera possible aussi bien sur les ascocarpes que sur les autres parties du champignon (mycélium, mycorhizes).

6- Paramètres bioécologique

Le développement et la croissance des Terfès exigent certaines conditions écologiques particulières notamment le sol et le climat (**Watson., 1992; Shavit., 2008;Bradai et al., 2014**).

7.1. Climat

Les Terfès prospèrent sous des climats chauds des zones semi arides et arides. Généralement, le climat a la plus grande influence sur les Terfès (**Malençon., 1973 ; Chevalier et al., 1984 ; Khabar et al., 1994**). Les Terfès se développent sous des climats caractérisés par automne et/ou hiver pluvieux, suivis par de périodes de sécheresse. Malgré ces pluies sont de faible quantité, elles jouent plusieurs rôles, notamment dans le transport, a dispersion et la germination des spores des truffes, mais également la germination et la croissance des plantes symbiotes (hélianthèmes) (**Bradai et al., 2013**).

De façon générale, les régions où poussent les truffes du désert se caractérisent par une pluviométrie annuelle comprise entre 50 et 380 mm. Par ailleurs, un bon rendement en truffes

dans les pays d'Afrique du Nord est obtenu lorsque la pluviométrie annuelle varie de 70 à 120 mm, alors que dans les pays d'Europe du Sud les bonnes productions en truffes coïncident avec des pluviométries variant entre 100 et 350 mm. En outre, la périodicité de ces précipitations est aussi importante que leur quantité, c'est-à-dire la pluie est nécessaire au plus tard au début décembre en Afrique du Nord et du Moyen-Orient et au plus tard début octobre dans les pays du sud de l'Europe (**Khabar., 2005 ; Bradai et al., 2014**). En Algérie les Terfès se développent dans des zones semi-arides et arides (Djelfa, Saïda, Laghouat, Tindouf, Ouargla, ...), et ils sont caractérisés par des étés chauds et secs, des hivers froids. Les pluies d'automne constituant un indice de fructification des Terfès leur production est conditionnée par des niveaux de précipitations favorables au début de l'automne, cependant, leur cycle biologique peut être perturbé par des précipitations excessives ou mal réparties et/ou par périodes de froid prolongées et/ou de fortes chaleurs. Le développement ainsi que la répartition des truffes du désert dans le Sahara Septentrional algérien, sont particulièrement liés à l'existence des conditions favorables du point de vue climatique, particulièrement la pluviométrie automnale et hivernale (**Bradai., 2014**).

7.2. Sol

Le sol est un facteur limitant pour le développement et la fructification des Terfès (**Fortas et Chevalier., 1992; Slama et al., 2006**). Selon Alençon (1973), le genre *Terfezia* est trouvé surtout dans les pâturages sablonneux, bien structurés et aérés, à proximité des petits hélianthèmes annuels. Les espèces de ce genre demeurent hypogées jusqu'à maturation, alors que celles du genre *Tirmania* (qui sont plus communes sur les terrains gypseux) affleurent à la surface de la terre à maturité, ce qui a amené certains auteurs à les qualifier de Terfès épigés ou semi épigés (**Malençon., 1973; Khabar., 2005**).

En règle générale, les terfès affectionnent des sols sablonneux, bien aérés et légers permettant une meilleure circulation des éléments minéraux ; alcalins ou acides, relativement pauvres en matière organique. La composition physico-chimique des sols de la surface et de la subsurface des terfès diffère significativement, la teneur en éléments minéraux, le PH et l'humidité sont plus élevés dans la subsurface que sur la surface, par contre, la teneur en matière organique est faible en subsurface (**Alsheikh et Trappe., 1983b ; Bradai., 2014**). Il apparaît ainsi que la densité des sols n'était pas très variable, mais d'une façon

générale, les sols truffiers sont bien structurés (Slama et al., 2006; Khabar et al., 2001; Khabar., 2005).



Figure 1 . Les différents sols de développement du terfès (Z.L., 2010)

8- Cycle biologique de la Truffe

Le cycle biologique débute par la germination d'un certain nombre de spores, entraînant l'émission d'hyphes (mycélium primaire), susceptible d'infecter les racelles d'Hélianthème, en donnant naissance à de nouveaux mycorhizes. Les fortes chaleurs de Juillet et les orages d'Août (apport d'eau), stimulent le cycle biologique des Terfès par la germination des spores, à condition que les quantités d'eau et de chaleur soient optimales. La majorité du cycle biologique s'effectue sous forme de filaments, formant un réseau ou mycélium. Le mycélium permet aux champignons de se nourrir et de coloniser des sites nouveaux. Le développement de ce mycélium est un préalable indispensable avant l'introduction du Terfès dans les racines de l'Helianthemum. Le mycélium, s'associant aux racines de l'arbre, crée un mycorhize permettant au champignon de se nourrir en sucre (hydrates de carbone) au début de Septembre. Les hyphes mycéliens divergent et se ramifient, l'ensemble évoluant globalement vers l'édification d'un organisme à front de croissance circulaire. Avec le temps, l'initiation fructifère débute par la formation de petits pelotons (primordium) au début de l'hiver, dans l'enchevêtrement des filaments du mycélium secondaire, à proximité des racines. Chaque peloton évoluera en Terfès. Quand le Terfès n'est pas récolté à la fin du printemps, l'ascocarpe se décompose, les ascospores libèrent les spores, et le cycle recommence (Bradai., 2006).

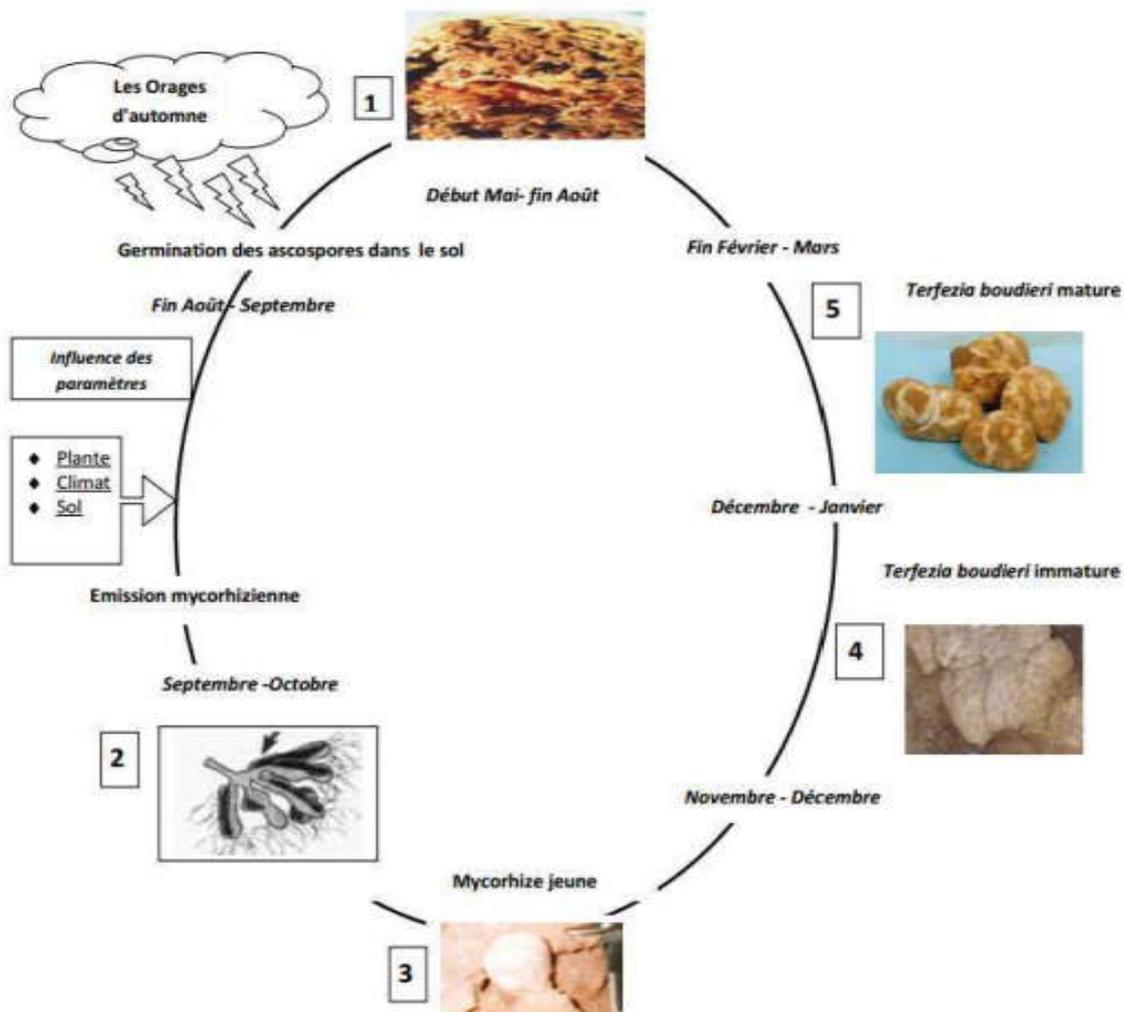


Figure 2. Cycle biologique de La truffe

Chapitre 2:

Matériel et Méthode

Dans cette parties, on va présenter et comparer les méthodes suivies dans les 8 travaux qui ont été réalisés sur l'activité antimicrobienne de terfez.

1. Type de truffes étudiées

on présent les différentes types de terfez qui utilisé dans ces expriences:(tab.1)

Article	Type de terfez
CASARICA et al	<i>Terfezia claveryi</i> Chatin
Garganoa et al	<i>T. claveryiet</i> de <i>T. pinoyi</i>
S. Neggaz et al	<i>T. claveryi</i>
Hamza et al	<i>Terfezia boudieri</i> Chatin
InetaBadger-Emeka et al	<i>T. claveryiet T. boudieri</i>
Harir et al	<i>Terfezia arenaria</i>
Bellahouel et Fortas	Tirmania pinoyi
Doğan et Aydın	<i>Terfezia boudieri</i> Chatin

2. Zone et date de récolte

Les échantillons utilisées dans les différents travaux ont été collectées dans différents payés et différentes régions (tab. 2).

Articles	Zone de récolte	Date de récolte
CASARICA et al	/	/
Garganoa et al	collectés dans la province des frontières du Nord de l'Arabie Saoudite, à 15 km au sud de la ville d'Arar	/
S. Neggaz et al	Tiaret (Algér)	
Hamza et al	désert de la zone aride tunisienne.	des mois de mars et avril 2009
InetaBadger-Emeka et al	ont été achetéesdans un magasin hebdomadaire local	en mars et avril
Harir et al	dans la région frontalière	

	entre la Libye et l'Algérie (Djanet, province de la ville d'Illizi	/
Bellahouel et Fortas	collectées dans le sud de l'Algérie	mois de février
Doğan et Aydın	dans le district de Karaman- Mara, sous <i>Helian themum</i> <i>salicifolium</i> ,	le 08.04.2001

3. Préparation de l'extrait de truffe

Les parties utilisées et les méthodes de préparation du matériel végétales dans les différents travaux sont détaillées comme suite :

Les méthodes de préparation des différents extraits pour les différents articles sont présentées dans le tableau 3:

Article	Préparation des l'extrait
CASARICA et al	Les truffes fraîches ou congelées ont été extraites dans de l'eau déminéralisée à 4°C dans un rapport de 2-3:1 (v/w) pendant 24 h. L'extrait a été séparé par filtration sur une couche d'adjuvant de filtration (célite) ou par centrifugation et il est soumis à une purification par ultrafiltration sur une membrane à cassette Biomax-10 (0,5 m ²) avec un seuil de coupure de 10 kDa (Millipore). La solution de perméat obtenue est ensuite concentrée sous vide à 1/6-1/9 (v/v), à max. 40°C
Garganoa et al	Les ascomates complets du champignon ont été débarrassés des débris (sans lavage) à l'aide d'un couteau. Les ascomates ont été séchés dans un ventilateur à panier, puis réduits en poudre dans un mélangeur et lyophilisés. Les

	extraits protéiques acido-solubles des deux échantillons de champignons ont été obtenus par sonication de 5 g de truffe lyophilisée dans une solution d'extraction (acide acétique à 10% dans un tampon salin phosphaté) selon Schillaci et al, 2017. Les extraits ont été ajustés à une concentration en protéines de 200 µg mL ⁻¹ .
S. Neggaz - Z et al	Des ascocarpes frais de <i>Terfeziaclaveryi</i> Chatin, sans dommage physique ou microbien apparent, ont été achetés sur les marchés locaux de Tiaret (Algérie) et ont été authentifiés par le Pr. FORTAS, Laboratoire de Biologie des Microorganismes et de Biotechnologie (LBMB), Faculté des Sciences de la Vie et de la Nature, Université d'Oran1 Ahmed Benbella, Algérie. Tous les échantillons de truffes ont été sélectionnés de manière identique en termes de taille, de forme, de couleur et de stade de maturation. Les truffes fraîches ont été débarrassées de la terre et séchées à l'ombre, elles ont ensuite été broyées en poudre fine et stockées à température ambiante dans un endroit sec et à l'abri de la lumière jusqu'à leur utilisation
Hamza et al	Après la récolte, les truffes frais ont été séchés à l'ombre, jusqu'à constance de la masse (20 jours). Ensuite, ils ont été broyés en poudre fine et stockés à température ambiante dans un endroit sec et à l'abri de la lumière jusqu'à leur utilisation.
Lorina Ineta Badger-Emeka et al	Cent grammes de poudre fine de <i>T. claveryi</i> et <i>T. boudieri</i> ont été pesés, trempés séparément dans de l'eau distillée dans un rapport de 1:3, pendant 48 h à une température de 4°C. La solution résultante a été homogénéisée après 48 h, filtrée à travers une double couche de coton. Le filtrat a été centrifugé à 3000 rpm pendant 10 min à température ambiante, les surnageants résultants ont été collectés et étiquetés comme échantillon brut d'extraits aqueux. Ces échantillons bruts ont ensuite été séchés sous

	pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif pour donner 6,2 g pour <i>T. claveryi</i> et 5,1 g pour <i>T. boudieri</i> . Ils ont été représentés comme des extraits aqueux bruts séchés totaux.
Harir et al	Les truffes fraîches ont été nettoyées et séchées à l'ombre. Ensuite, elles ont été broyées en poudre fine et stockées à température ambiante dans des conditions sombres et sèches jusqu'à leur utilisation. L'identification du genre des spécimens récoltés a été basée sur la coloration par le réactif de Melzer (Josserand 1983). Pour cela, un fragment du champignon a été prélevé et sa paroi a été flétrie et écrasée. Puis quelques gouttes du réactif de Melzer ont été ajoutées et, après 10 min, observées au microscope optique (Optika) à des grossissements de 400× et 1000×, et des photomicrographies ont été prises avec un appareil photo (Bio microscopique Motic Image plus 2.0). Plusieurs observations successives après 4, 6, 24 et 48 h ont été nécessaires pour confirmer la coloration finale des asques. Le développement d'une coloration jaune ou orange sur les parois de l'asque indique que le spécimen appartient au genre <i>Terfezia</i> alors que l'apparition d'une couleur gris-bleu indique qu'il appartient au genre <i>Tirmania</i> (Trappe 1979)
Bellahouel et Fortas	Les ascocarpes séchés du champignon <i>T. pinoyi</i> ont été pelés, tranchés et broyés pour obtenir une poudre uniforme. 1000 ml d'acétate d'éthyle ont été placés dans un appareil Soxhlet avec 70g de la poudre d'ascocarpes. Après 3 h, l'extrait a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif
Doğan et Aydın	L'échantillon de champignon en poudre (30 g) a été extrait avec 250 ml de chloroforme dans un bécher en verre pendant 8 h à 55°C sur une plaque chauffante. L'extrait résultant a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40°C et à basse pression, et la phase désirée a été séparée de l'extrait brut avec du chloroforme. Ensuite, le résidu a été extrait avec de l'acétone et du méthanol, respectivement. Une fois les

	extractions terminées, tous les extraits semi-solides ont été lyophilisés. Les extraits lyophilisés ont été dissous dans du DMSO : PBS (1:1) à une concentration de 100.000 µg/mL. Ces extraits ont été filtrés à travers un filtre stérile (0,45 µm) et stockés à 4°C.
--	---

4. Espèces de microorganismes

Les microorganismes testées dans les différents travaux sont présentés dans le tableau 4.

Article	Bactéries	Champignons
CASARICA et al	trois souches de bactéries : une bactérie Gram-négative (<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739) et deux bactéries Gram-positives (<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 et <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228).	/
Gargano et al	Six souches bactériennes Gram-négatives et Gram-positives, agents causaux de maladies économiquement importantes de la tomate ont été utilisées. Il s'agit de <i>Pseudomonas corrugata</i> CFBP 5454, <i>P. mediterranea</i>	/
S. Neggaz et al	dix souches différentes de bactéries Gram positives, Gram négatives et de levures ont été utilisées pour la détermination de l'activité antimicrobienne. Quatre bactéries Gram-positives (<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538, <i>Enterococcus</i>	une espèce de levure (<i>Candida albicans</i> ATCC 10231).

	<p><i>faecalis</i> ATCC 2035, <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 et <i>Corynebacte- rium</i>), cinq Gram-négatives(<i>Escherichiacoli</i> ATCC 25922, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 14028, <i>Klebsiella pneumo- niae</i> ATCC 4352<i>Proteus vulgaris</i>et<i>Salmonella typhi</i>)</p>	
Hamza et al	<p>sept souches de bactéries : trois Gramnégatives (<i>Salmonella typhimurium</i>(NRRLB4420), <i>Escherichia coli</i> (ATCC19115) et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC27853)) et quatre Gram-positives (<i>Enterococcus faecalis</i>(ATCC29212), <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterococcusfaecalis</i>(ATCC29212), <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC25923), <i>Staphylococcusepider- mis</i> (CIP106510) et <i>Bacillus subtilis</i>(ATCC168)</p>	
LorinaInetaBadger-Emeka et al	<p>des bactéries Gram-négatives associées auxinfections oculaires</p>	/
Harir et al	<p>Trois d'entre elles étaient Gram-négatives (c'est-à-dire <i>Escherichia coli</i> ATCC25922, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>ATCC23853 et <i>Salmonella typhimurium</i>ATCC14028) etles</p>	/

	deux autres étaient	
Bellahouel et Fortas	<i>S. aureus</i> ATCC 6538 et <i>B. subtilis</i> ATCC 6633 <i>S. aureus</i> ATCC 6538 et <i>B. subtilis</i> ATCC 6633	/
Doğan et Aydın	Quatre bactéries Gram-positives (<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633, <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6633, <i>Listeria monocytogenes</i> type 2 NCTC 5348 et <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615) et cinq bactéries Gram-négatives (<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218, <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442, <i>Proteus vulgaris</i> ATCC 7829 et <i>Salmonella enteritidis</i> RSHMB) ont été choisies comme bactéries de test.	<i>Candida albicans</i> ATCC 1023 a été choisi comme levure

5. Essais de l'activité antimicrobienne

Article 1 (CASARICA et al)

Les activités antimicrobiennes des solutions obtenues (filtrat et rétentat) après ultrafiltration de l'extrait brut de *Terfezia clavaryi* Chatin, ainsi que de l'extrait final (solution de perméat après concentration), ont été testées contre trois souches de bactéries : une bactérie Gram-négative (*Escherichia coli* ATCC 8739) et deux bactéries Gram-positives (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538 et *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228). Les tests ont été réalisés dans des boîtes de Pétri stériles, contenant chacune 15 à 20 ml de milieu de culture approprié (CaSoA), préalablement inoculé avec 10⁴-10⁵ unités formatrices de colonies (UFC)/mL à

partir d'une souche bactérienne. Sur chaque boîte, 4 cylindres en acier inoxydable de 8 mm de diamètre ont été placés sur la surface solidifiée du milieu. Ensuite, dans chaque cylindre, on a ajouté 0,2 ml d'échantillon, soit de l'extrait de truffe tel quel (9,3 % de matière sèche) et en dilution aqueuse (extrait/eau 1:5 v/v), soit différentes concentrations de l'antibiotique sulfate de gentamicine (EIPICO). Les boîtes de Pétri ont été incubées pendant 24 heures à $33 \pm 2^\circ\text{C}$. Après la période d'incubation, les zones d'inhibition de la croissance ont été mesurées et les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne arithmétique de trois mesures pour chaque échantillon. L'activité antimicrobienne a été évaluée sur la base du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance comme suit : < 10 mm - pas d'activité antimicrobienne ; 10 - 15 mm - activité antimicrobienne faible ; 16 - 20 mm - activité antimicrobienne modérée ; 20 mm $>$ - activité antimicrobienne élevée [25]. Dans la présente étude, nous avons testé l'activité de l'extrait aqueux tel quel et d'un extrait dilué cinq fois, de celui-ci afin de le comparer aux résultats obtenus après avoir testé différentes concentrations de sulfate de gentamicine, variant de $25 \mu\text{g/mL}$ à $400 \mu\text{g/mL}$. Quel, la dilution entraînant une perte substantielle de l'effet antibactérien, les zones d'inhibition de la croissance passant de 20,5 - 26,5 mm à seulement 10 - 12,5 mm. D'autre part, le *Terfezia claveryi* Chatin n'est peut-être pas le seul de sa famille à posséder des propriétés antimicrobiennes.

Article 2 (Letizia Gargano et al)

Activité antimicrobienne *in vitro*

L'activité antimicrobienne a été évaluée par la méthode de well-diffusion en double couche dans des plaques de Potato Dextrose Agar (PDA, Oxoid). Cinquante microlitres de suspensions bactériennes ont été étalés sur la surface de la PDA avec une tige de verre courbée. Des puits de cinq mm de diamètre ont été préparés sur la surface de la gélose et remplis avec 10 μl de l'extrait de *T. claveryi* ($200 \mu\text{g mL}^{-1}$) ou de *T. pinoyi* ($200 \mu\text{g mL}^{-1}$). Les plaques ont été incubées jusqu'à 2 jours à 27°C , après quoi elles ont été examinées pour détecter des zones d'inhibition claires autour du puits. Tous les tests ont été effectués deux fois en triplicata à chaque fois. Les valeurs ont été analysées par une analyse de variance à sens unique (ANOVA) avec le logiciel STATGRAPHICS Plus 5.1. Les valeurs moyennes ont été comparées à l'aide du test de Student NewmanKeuls ($P=0,05$).

Article 3 (S. Neggaz et al)

- Chaque suspension bactérienne a été étalée sur la surface de plaques de Muller-Hinton Agar. Les plaques contenant des puits de 6 mm de diamètre ont été remplies avec 30µL d'extraits. Les plaques ont ensuite été incubées à 37°C pendant 24 h. Les résultats ont été exprimés en termes de diamètre de la zone d'inhibition. Tous les tests ont été réalisés en triplicata. La streptomycine (30 µg) a été utilisée comme contrôle positif, tandis que les solvants ont été utilisés comme contrôle négatif contre les bactéries et les levures, respectivement.

Essai antifongique

- *C. albicans* a été cultivé dans du bouillon Sabouraud pendant 48 heures à 27°C et de la gélose Sabouraud a été utilisée pour les expériences de diffusion en puits de gélose comme expliqué ci-dessus. Les suspensions fongiques ont été ajustées à 10⁵ cellules/ml. Les zones d'inhibition ont été déterminées après une incubation de 48 heures à 27°C. Tous les tests ont été réalisés en triplicata.

Article 4 (Hamza et al)

- Les activités antimicrobiennes des extraits de *T. boudieri* ont été testées contre sept souches de bactéries : trois Gram négatives (*Salmonella typhimurium* (NRRLB4420), *Escherichia coli* (ATCC19115) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853)) et quatre Gram-positives (*Enterococcus faecalis* (ATCC29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC25923), *Staphylococcus epidermis* (CIP106510) et *Bacillus subtilis* (ATCC168)). Les micro-organismes ont été obtenus à partir de la collection de cultures de l'Institut des Terres Arides de Médenine (Tunisie).

Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

- Les valeurs CMI, qui représentent les plus faibles concentrations d'extraits empêchant la croissance visible des micro-organismes, ont été déterminées comme décrit précédemment (**Zouari et al. 2011**). Tous les tests ont été réalisés dans un milieu de bouillon Mueller-Hinton (MHB) additionné de 5 % de diméthyl sulfoxyde (DMSO). Les souches bactériennes ont été cultivées pendant la nuit dans le MHB à 37 °C. Les tubes de MHB contenant les différents extraits ont été inoculés avec 10⁶ unités formatrices de colonies (cfu)/ml de cellules bactériennes. Ensuite, ils ont été incubés dans des conditions d'agitation (120 rpm) pendant 24 h à 37°C. Des tubes témoins sans échantillons ont été réalisés simultanément. Tous les tests ont été réalisés en double et les résultats ont été moyennés.

Article 5 (InetaBadger-Emeka et al)

- La méthode de susceptibilité antimicrobienne par diffusion en puits[35,36] a été utilisée pour déterminer l'effet antimicrobien des truffes du désert contre les isolats d'infections oculaires cliniques. Chaque isolat de bactéries a été inoculé et étalé sur une gélose de Muller Hilton. À l'aide d'un bouchon de liège de 0,8 mm, des puits ont été creusés dans la gélose et des extraits des deux truffes du désert ont été introduits dans chaque puits. Toutes les plaques ont été incubées en aérobiose à 37°C pendant une nuit, après quoi les zones d'inhibition ont été mesurées à l'aide d'une règle de mm. L'expérience a été réalisée en trois répétitions.

- **Article 6 (Harir et al)**

Les souches bactériennes ont été cultivées pendant une nuit à 37 °C dans de la gélose nutritive, tandis que *C. albicans* a été cultivé dans de la gélose Sabouraud. L'inoculum pour les essais a été préparé en inoculant trois à cinq colonies d'une culture sur gélose dans 10 ml de bouillon nutritif , puis incubé à 37 °C pendant 24 h. Après la croissance, la suspension microbienne a été normalisée avec une solution saline stérile jusqu'à une turbidité équivalente à 0,5 échelle Mc Far- land (108 UFC/ml pour les bactéries et 106 UFC/ml pour *C. albicans*). Pour les champignons filamenteux, des bouchons mycéliens de 5 mm de diamètre ont été prélevés sur des pré-cultures cultivées de 4 à 7 jours, puis placés dans des tubes à essai contenant 10 ml d'eau physiologique stérile. Après vortexage, l'absorbance a été normalisée entre 0,08 et 0,12 densité optique (DO) par un spectrophotomètre UV-Vis à 625 nm. Si nécessaire, la turbidité a été diminuée en ajoutant plus d'eau stérile physico-chimique ou augmentée en ajoutant plus de bouchons mycéliens. L'activité antimicrobienne des extraits bruts a été testée en utilisant la méthode de la gélose à bonne diffusion sur milieu Mueller Hinton(MHA). Pour cela, 0,1 ml de suspension de spores bactériennes, de levures ou de champignons a été étalé uniformément sur la surface du MHA. Des puits de 6 mm de diamètre ont été perforés dans la gélose et remplis de 25µL d'extraits bruts de la truffe du désert *T. arenaria*. Les plaques ont d'abord été maintenues à 4 °C pendant au moins 2 h pour permettre la diffusion d'éventuels métabolites antibactériens, puis incubées à 37 °C

- **Article 7 (Bellahouel et Fortas)**

Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'extrait de *T. pinoyia* été testée contre des souches de bactéries Gram positives et négatives par la méthode de diffusion en disque agar (Berghe et Vlietinck, 1991 ;Cappuccino et Sherman, 1998).

De la gélose Mueller-Hinton a été versée dans les plaques jusqu'à une profondeur uniforme de 4 mm et laissée se solidifier.

Les suspensions microbiennes à 10⁸cfu/ ml ont été étalées sur la surface des milieux à l'aide d'un coton-tige stérile pour assurer la croissance confluyente de l'organisme. Les disques utilisés étaient des papiers What man No 1 de 6 mm de diamètre. Des aliquotes des fractions de l'extrait d'acétate d'éthyle ont été imprégnées sur des disques de papier filtre, qui ont ensuite été appliqués de manière aseptique à la surface des plaques de gélose à des intervalles bien espacés. Les plaques ont été incubées à 37°C pendant 24 h. Les zones d'inhibition, y compris le diamètre des disques, ont été mesurées (les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés dans les deux directions perpendiculaires autour du disque). Des disques de contrôle ont été imprégnés d'aliquotes du solvant acétate d'éthyle.

- **Article 8 (Doğan et Aydın)**

Essai antimicrobien

Le bouillon d'infusion cerveau-cœur (BHIB, Oxoid) a été utilisé pour cultiver les bactéries, et le bouillon d'extrait de malt (MEB, Difco) a été utilisé pour les levures. Les cultures bactériennes ont été ajustées à 10⁵ Cfu/ml. La concentration de la levure a été ajustée à 10⁴ Cfu/ml.

Détermination de l'activité antimicrobienne par la méthode de micro dilution

L'extrait de *T. boudieri* dans les solutions mères a été préparé à une concentration de 20000 µg/ml dans du PBS :DMSO (1:1). La DMSO (100 µL) a été distribuée dans chaque puits d'une plaque de micro titration à 96 puits et à fond plat. Les 1/2 dilutions sérielles (100 µL) des extraits de chloroforme, d'acétone et de méthanol de *T. boudieri* ont été préparées séparément. Enfin, une série de dilutions de chaque extrait a été préparée de 20000 µg/mL à 0,305 µg/mL. Ensuite, 100 µl de chaque suspension bactérienne ont été ajoutés dans chaque puits contenant la MHB et le mélange d'extraits de champignons. Cette procédure a également été répétée pour la levure dans différents puits de la plaque. L'absorbance des plaques a été mesurée à l'aide d'un lecteur ELISA à 630 nm (EL x 800). La concentration la plus faible ayant produit un effet inhibiteur a été enregistrée comme la CMI pour chaque extrait, comme décrit par Devienne & Raddi (2002) avec quelques modifications. L'ampicilline (concentration de 100 µg/mL) pour les bactéries et l'amphotéricine B (concentration de 50 µg/mL) pour les levures ont été utilisées comme témoins positifs. Chaque expérience a été réalisée en triplicata

Chapitre 3

Résultats et discussion

Les résultats obtenus dans chaque article sont présentés dans la partie suivantes

- la truffe brune a un effet élevé d'inhibition de la croissance contre *Staphylococcus aureus* et également contre *E. coli* et *Staphylococcus epidermidis*, ce dernier étant une cause courante d'infection oculaire. l'extrait doit être utilisé tel quel, la dilution entraînant une perte substantielle de l'effet antibactérien, les zones d'inhibition de la croissance passant de 20,5 - 26,5 mm à seulement 10 - 12,5 mm. D'autre part, le *Terfezia claveryi* Chatin n'est peut-être pas le seul de sa famille à posséder des propriétés antimicrobiennes.

L'extrait aqueux de *Terfezia boudieri* présente une concentration minimale inhibitrice de 6 mg/mL contre *Escherichia coli*. l'extrait aqueux purifié de truffes brunes a une activité comparable à une concentration d'antibiotique égale à 25 µg/mL contre les deux bactéries Gram positives (CASARICA et al).

- **Activité antimicrobienne *in vitro***

Les extraits des deux truffes du désert ont montré une activité antimicrobienne contre toutes les espèces bactériennes testées. Les zones d'inhibition variaient de 0,33 à 1,22 cm et de 0,33 à 1,88 cm pour *T. pinoyi* et *T. claveryi* respectivement. Les deux extraits ont montré l'activité antimicrobienne la plus forte contre *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* PVCT 156.1.1 et *X. vesicatoria*. CFBP 2537T, qui était significativement différente de celles observées pour les autres espèces bactériennes. La plus faible activité d'inhibition a été enregistrée contre *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* CFBP 2046T.

Dans cette étude, ils ont rapporté que les extraits protéiques acido-solubles des deux champignons ont une activité antimicrobienne également contre les bactéries phytopathogènes. Les extraits des deux espèces *T. pinoyi* et *T. claveryi* étaient actifs à très faible concentration avec une valeur de CMI inférieure à celles enregistrées contre les bactéries pathogènes pour l'homme (Schillaci et al., 2017).

Activité phytotoxique des extraits sur les plants de tomates

La phytotoxicité des extraits a été évaluée sur des plants de tomates et aucune lésion, nécrose ou déformation des feuilles n'a été observée jusqu'à 3 semaines après l'inoculation des extraits à la plus forte concentration (200 g mL⁻¹) (Garganoa, et al).

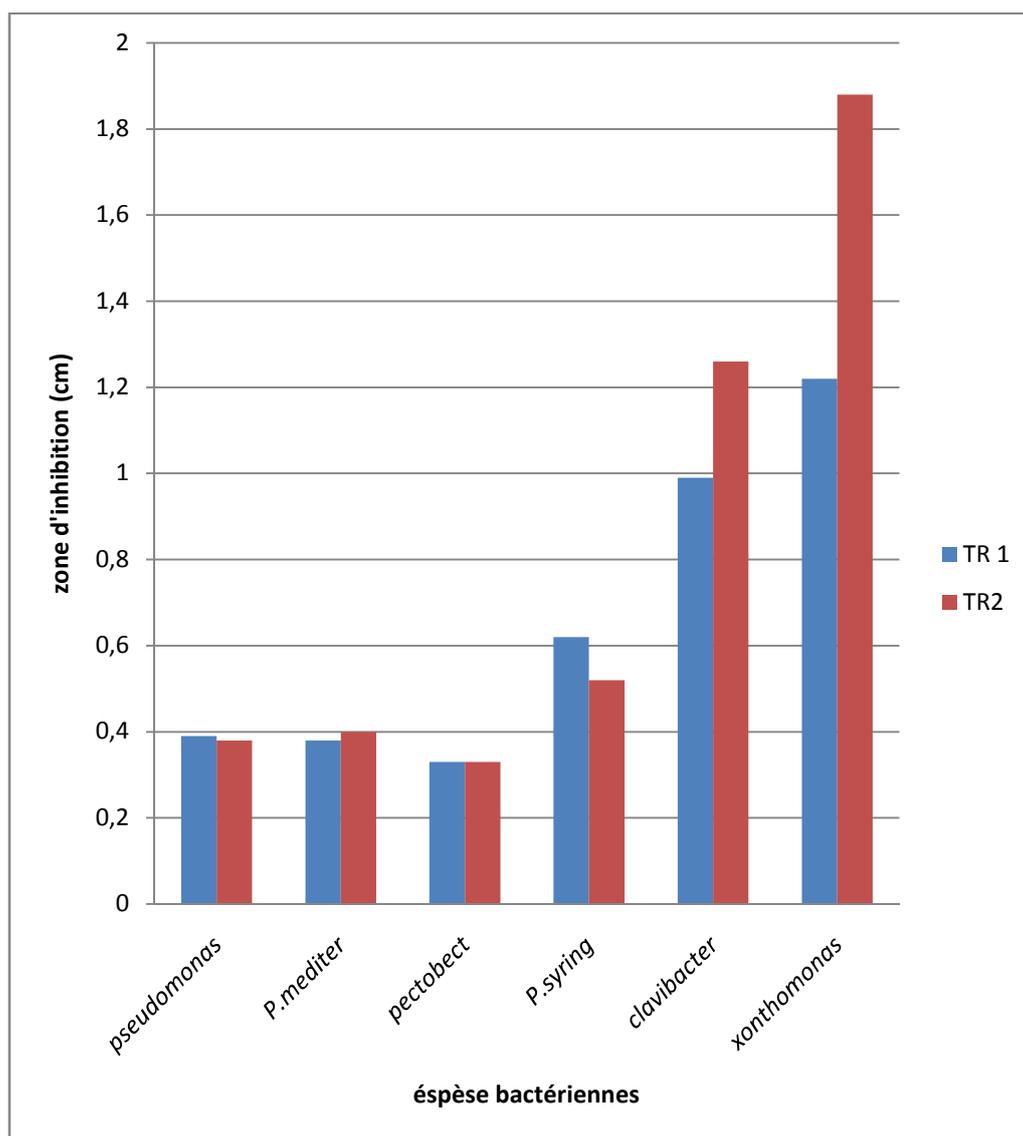


figure 3. Zone d'inhibition (cm) induite par les extraits acides de *Tirmania pinoyi* et *Terfezia clavayi* contre les bactéries phytopathogènes Gram-positives et Gram-négatives de la tomate.

- les activités antibactériennes et antifongiques ont été testées avec les extraits de *T. clavayi* dans le dichlorométhane, le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le méthanol.

montré une activité antimicrobienne significativement plus élevée contre les bactéries Gram positives et Gram-négatives que les autres extraits.

Les extraits de chloroforme et d'acétate d'éthyle ont montré une activité antibactérienne appréciable contre les bactéries et les levures. L'extrait méthanolique a eu une activité antibactérienne et antifongique modérée, mais l'extrait de macérat était inactif contre toutes les bactéries et les levures.

- ils remarquent que l'activité antimicrobienne des *T. claveryi* est fortement influencée par la méthode d'extraction (Macération et extraction soxhlet). Nous avons également observé que la nature des solvants utilisés a un impact significatif sur les activités antimicrobienne (S.Neggaz et al).
- **Activité antimicrobienne de T. boudieri truffle**
- L'activité antimicrobienne des extraits truffle de *T. boudieri* contre sept espèces de bactéries a été évaluée par la détermination des valeurs de concentration minimale inhibitrice(CMI) (mg d'extrait/ml de milieu). les extraits de truffe ont montré des degrés variables d'activité antibactérienne contre toutes les souches testées. Les valeurs CMI des souches microbiennes étaient comprises entre 0,5 et 8 mg/ml en fonction de la nature de l'extrait et de la souche bactérienne. l'extrait méthanolique semble être le plus efficace sur les souches testées. De plus, *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. faecalis*, et *E. coli* étaient les bactéries les plus sensibles pour cet extract truffle. **Hussain et Al-Ruqaie (1999)** ont rapporté que l'extrait méthanolique de *Terfezia* truffles avait une activité antimicrobienne contre une large gamme de bactéries Gram positives et Gram-négatives. En outre, certains chercheurs ont également étudié l'impact des solvants de l'extrait sur l'activité antimicrobienne de la *Terfezia* truffles. truffles (**Hussain et Al-Ruqaie, 1999 ; Janakat et al. 2004,2005**). L'extrait de méthanol de *Tirmania* truffles a été considéré pour fournir l'activité inhibitrice antimicrobienne la plus importante par rapport aux extraits d'eau et d'acétate d'éthyle de *Tirmania* truffles (**Hamza et al**).

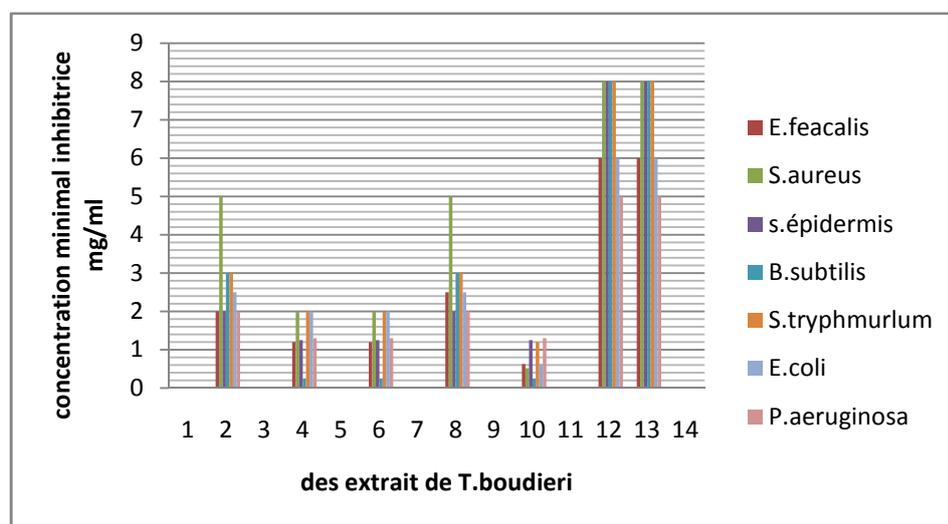


Figure4. Activité antibactérienne (concentration minimale inhibitrice, mg/ml) des extraits de T. boudieri truffle

- la sensibilité des bactéries aux antimicrobiens met en évidence les difficultés rencontrées au niveau mondial dans la prise en charge générale des infections bactériennes, y compris celles impliquées dans les infections oculaires, comme le montre ce rapport. Il est, cependant, digne de noter qu'indépendamment de la sensibilité aux antimicrobiens par les isolats dans la présente enquête, les extraits et ou les fractions des deux truffes du désert dans la présente étude ont été efficaces. (**InetaBadger-Emeka et al**).
- Les activités antibactériennes et antifongiques de différentes concentrations d'extraits de *T.arenaria*, obtenues par deux méthodes d'extraction (c'est-à-dire macération avec du méthanol et Soxhlet avec du dichlorométhane), ont été testées contre différents microorganismes sensibles par la méthode de diffusion en gélose.

L'examen morphologique et microscopique de la gléba de Terfez mature a montré qu'elle était formée d'un grand nombre de mycéliums et contenait entre six et huit obtenue pour l'extrait de macération était environ 72% plus élevée que celle obtenue pour l'extrait Soxhlet.

Deux techniques d'extraction (c'est-à-dire la macération avec du méthanol et le Soxhlet avec du dichlorométhane) ont été utilisées pour sélectionner la meilleure du point de vue du rendement d'extraction et des biomolécules actives.

Les extraits de *Terfezia arenaria* ont montré un effet inhibiteur significatif sur la croissance de la plupart des souches microbiennes testées, en particulier pour les extraits Soxhlet. Ainsi, il a été constaté que Les extraits de *T. arenaria* obtenus par la méthode Soxhlet avec du dichlorométhane ont présenté une activité antibactérienne et antifongique (levures et champignons filamenteux) significative . Ainsi, les extrait de dichlorométhane s'est avéré efficace contre toutes les bactéries, levures et champignons filamenteux testés.

- l'extrait Soxhlet de *T. claveryi* présentait des activités antimicrobiennes plus importantes contre les bactéries Gram-positives, Gram négatives et les levures que l'extrait de macération. La composition des extraits de *T. arenaria* obtenus par la méthode de macération présentait moins de composés phénoliques que celle obtenue par la méthode Soxhlet. Ceci est dû à la différence de diffusion du solvant dans la poudre des plantes lors de l'étape de macération et éventuellement à la nature des solvants utilisés pour l'extraction (Naczka et Shahidi 2004) . (**Harir et al**).
- il a été accordée à deux fractions seulement en raison de leur forte concentration dans l'extrait. Elles ont été nommées fraction A ($R_f = 0,3$) et fraction B ($R_f = 0,1$).Les deux fractions isolées de l'extrait des ascocarpes séchés de *T. pinoyi* ont été testées sur les souches bactériennes.

Les deux fractions de l'extrait ont inhibé la croissance de seulement deux souches bactériennes : *S. aureus* ATCC 6538 et *B. subtilis* ATCC 6633. Ces résultats confirment l'activité antibactérienne des truffes du désert citée dans la littérature .

- les fractions de l'extrait d'acétate d'éthyle de la truffe comestible du désert, *T. pinoyi*, contiennent des produits qui inhibent la croissance de *S. aureus* ATCC 6538 et *B. subtilis* ATCC 6633. *P. aeruginosa* ATCC 14028, *E. coli* ATCC 25922 et *Enterococcus* sp. ATCC 29212 n'ont pas été inhibés . La GC-MS a révélé la présence de plusieurs produits ; nous avons pu identifier uniquement les pyrazines qui ont une activité antibactérienne dans la littérature **(Bellahouel et Fortas)**.

- **l'activité antimicrobienne**

- pour évaluer l'activité antimicrobienne, les valeurs CMI doivent être mesurées de la 4^e à la 16^e dilution. Les effets antimicrobiens de *T. boudieri* contre les bactéries et les levures ont été mesurés selon les fourchettes suivantes:

1-Les valeurs de CMI sont inférieures à 100 µg/mL = l'activité antimicrobienne est levée ;

2-Les valeurs CMI sont comprises entre 100 µg/mL et 500 µg/mL = l'activité antimicrobienne est modérée ; les valeurs 3-CMI sont comprises entre 500 µg/mL et 1000µg/mL = l'activité antimicrobienne est faible ;

Les valeurs de 4-MIC sont supérieures à 1000 µg/mL = aucun effet antimicrobien

- En général, les extraits acétone et chloroforme de *T. boudieri se* sont avérés plus efficaces que les extraits méthanol contre les bactéries et les levures. Les concentrations CMI les plus efficaces des extraits ont été généralement mesurées entre la 6^e et la 10^e dilution.
- Les résultats actuels sont similaires ou plus efficaces que ces littératures. À notre connaissance, il n'y avait auparavant aucun rapport sur les effets antimicrobiens de *T. boudieri* en utilisant la méthode de micro dilution, et ce résultat a été rapporté ici pour la première fois **(Doğan et Aydın)**.

Conclusion

d'après analyse statistique de ces résultats révèle que l'activité antimicrobienne des extraits de Différentes espèces de truffes du désert varie significativement selon la nature du solvant utilisé et les microorganisme testés.

L'importance de cette activité antimicrobienne des extraits de truffe du désert expliquerait l'utilisation de ces champignons en médecine traditionnelle pour traiter certaines maladies chez l'homme.

En perspectives, il serait intéressant de poursuivre ce travail afin de:

- L'étude du pouvoir antioxydant des extraits obtenus par les différentes méthodes d'extraction et différents solvants.
- Rechercher d'autres activités biologiques (anti-inflammatoire, antivirale, antidiabétique, anti-hypertensive etc.)traiter certaines maladies chez l'homme .

Références

Bradai, L., 2006, contribution à l'étude bioécologique de la truffe blanche de désert (*Terfezia* sp) cas de la région de Oued Mya (Ouargla). Thèse de Magister. Univ .Kasdi Merbah, Ouargla

Bradai L. Bissati S. Chenchouni H. 2014. Desert Truffles of the North Algerian Sahara: Diversity and Bioecology. Emirates Journal of Food and Agriculture.

Chatin A. (1891). Contribution à l'histoire naturelle de la truffe. Bulletin de la Société Botanique de France. 38, 54-64.

Slama . Fortas Z. Neffati M. Khabar L. Boudabous A. (2006). Etude taxonomique de quelques Ascomycètes hypogés (*Terfeziaceae*) de la Tunisie méridionale. Bull Soc Mycol Fr 122(2–3): p :187–195.

Watson A., (1992). Desert soils. In: Martini IP, Chesworth W(eds) Weathering soils and pale soils. Developments in earth surface processes. Elsevier. Amsterdam

Angela C. Misu M. Marwan D. Ioana N. Minerva p . Iuksel R . 2015 .a purified extract from brown truffles of the species *terfezia claveryi* chatin and its antimicrobial activity .

Maria L . Patrizia B. Stefano P. Vincenzo A. Luigi I. Vittoria C. Giuseppe V . Salvatore D .2017. Antimicrobial Activity of the Extracts of *Terfezia claveryi* and *Tirmania pinoyi* Against Gram-positive and Gram-negative Bacteria Causal Agent of Diseases in Tomato.

S. Neggaz Z., Fortas M., Chenni D., El Abed B., Ramli N. Kambouche .2015. In vitro evaluation of antioxidant, antibacterial and antifungal activities of *Terfezia claveryi* Chatin.

Amina H ., Nacim Z. Sami Z., Hamida J ., Slah Z ., Maher G ., Mohamed Neffati .2013. Nutraceutical potential, antioxidant and antibacterial activities of *Terfezia boudieri* Chatin, a wild edible desert truffle from Tunisia arid zone.)

Lorina I., Promise M. Saif A ., Hany E. 2021. *Terfezia claveryi* and *Terfezia boudieri* Extracts: An Antimicrobial and Molecular Assay on Clinical Isolates Associated with Eye Infections.

Mohammed H., Merzouk Y., Miloud B., Fortas Z. 2019. Evaluation of antimicrobial activity of *Terfezia arenaria* extracts collected from Saharan desert against bacteria and filamentous fungi.

Dib B ., Fortas Z. 2011. African jornal of biotechnology. Antibacterial activity of various fractions of ethyl acetate extract from the desert truffle, *Tirmania pinoyi*, preliminarily analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS).

Hasan h., e sema A. 2011. determination of antimicrobial effect, antioxidant activity and phenolic contents of desert truffle in turkey.

