
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université d'Ain-Temouchent Belhadj Bouchaib – UATBB-
Faculté des sciences et de la technologie
Département de l'Agroalimentaire



MÉMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Ecologie et environnement

Spécialité : Ecologie végétale et environnement

Par :

M^{elle} Belhadri Rahmouna.

M^{elle} Benbabouche Mama.

Thème

Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles et d'hydrolat de deux plantes *Verbena officinalis* L et *Origanum vulgare* L contre une moisissure des olives (*Penicillium* sp).

Soutenu le 27/06/2022

Devant le jury composé de :

Présidente : Belhacini Fatima	« MCA »	U.B.B.A.T
Examinatrice : Derrag Zineb	« MCA »	U.B.B.A.T
Encadrante : Tabti Leila	« MCA »	U.B.B.A.T

Année universitaire : 2021-2022

Remerciements

En premier lieu, Je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donné le courage et la santé pour réaliser cette étude.

*Je tiens à remercier vivement Madame **Tabti Leila** pour avoir encadré et dirigé ce travail avec un grand précieux conseil et son soutien à tous les instants. Sa gentillesse, ses grandes qualités scientifiques et humaines ont contribué au bon déroulement de ce travail. Ses critiques et sa compétence ont été un solide appui et un réconfort.*

*Je tiens nos vives reconnaissances aux membres de jury, **Mme Belhacini** et **Mme Darrag** pour nous avoir fait l'honneur d'examiner ce mémoire.*

*Nous tenons à exprimer nos reconnaissances au membre du laboratoire d'écologie et gestion des écosystèmes naturels de l'université de Tlemcen « Abou Baker Belkaïd », et le laboratoire (**LASNABIO**), précisément Madame **Mehiaoui Kheira**.*

Nous n'oublions pas nos collègues de la promotion 2021/2022 du Master 2 et mes amies.

En dernier lieu, mes remerciements vont aussi pour tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à élaborer cette Modeste étude

Dédicace

*A l'aide de Dieu le tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail
que je dédie :*

*Aux deux êtres les plus chers au monde, mes parents : A mon très cher père Miloud et à ma
Très Chère mère Zoulikha pour leurs amour et bonté, et que sans eux je n'aurai jamais pu
atteindre mon objectif, que Dieu me les gardes.*

A mes frères Aymen et Zenagui.

A mon mari Mohamed pour ses conseils et ses encouragements.

A toute ma famille et mes amis : Ibtisem, Yousra, Zineb, Chaimaa.

A toute les personnes que j'aime et m'aiment ; et tous ce qui mon aidé de près ou de loin.

Mama

Dédicace

Je dédie ce travail à :

A la lumière de mes yeux ma mère. Qui m'a supporté et m'a aidé dans les pires moments, car tu as toujours cru en moi, c'est grâce à toi que je suis ce que suis aujourd'hui.

A toutes les personnes gentilles qui m'ont donné de l'aide et le courage dans ma vie.

A ma grande mère maternelle « El baraka », qu'Allah vous protège et vous donne de la santé.

A ma famille Belhadri et Basri.

A toutes mes amis Bouchra, Asma, Sara, et Raounak.

Rahmouna

Sommaire

Remerciements	
Dédicace	
Sommaire	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	1
Synthèse bibliographique	
I - Plantes médicinales	3
I-1- Généralités sur les plantes médicinales et aromatique(PMA)	3
I-2-Définition des plantes médicinales	4
I-3- Intérêt de l'étude des plantes médicinales	4
I-4- Domaines d'application des plantes médicinales	5
II- Plantes étudiées.....	5
II-1 Verbena officinalis L.....	5
II-1-1- Historique	5
II-1-2- Classification	6
II-1-3- Caractéristiques de la plante.....	7
II-1-4- Description botanique.....	7
II-1-5- Bienfaits de plante Verbena officinalis L.....	8
II-2. Origanum vulgaire L.....	8
II-2-1- Historique	8
II-2-2- Caractéristiques de plante.....	10
II-2-3- Classification	11
II-2-4- Description botanique.....	12
II-2-5- Distribution géographique dans le monde.....	13
II-2-6- Utilisations médicinales de la plante	13
III- Huiles essentielles.....	14
III-1- Définition des huiles essentielles	14

III-2-Localisation des HE dans les plantes.....	15
III-3- Rôle des HE dans les plantes.....	15
III-4- Fonctions biologiques des huiles essentielle	16
III-5- Procédés d'extraction des huiles essentielles	16
III-6- Composition chimique des huiles essentielles	20
Matériel et Méthodes	
I- Matériel végétal.....	22
II- Matériel du laboratoire.....	22
III- Matériel fongique	22
VI- Extraction des huiles essentielles	23
VI-1- Mode opératoire	23
VI-2- Détermination des rendements en huiles essentielles :	24
VI-3- Conservation des huiles essentielles	25
V-Tests antifongiques	25
V-1 Milieu de culture PDA	25
V-2- Evaluation du potentiel antifongique	25
V-3- Croissance radiale de penicillium sp.....	25
V-4- Détermination de l'Indice antifongique	26
V-5- Utilisation de l'hydrolat pour la conservation des olives.....	26
V-6- Détermination de la CMI	27
Résultats et discussion	
I- Identification de la moisissure isolée des olives	28
I-1-Identification macroscopique	28
I-2- Identification microscopique	28
II- Détermination du rendement en HE	29
III- Evaluation des activités antifongiques des HEs des plantes étudiées	31
III-1-Evaluation de l'activité antifongique des HEs.....	31
III-2- Evaluation de l'activité antifongique des Hydrolats Résultats d'Hydrolat.....	33
Conclusion	37
Références bibliographiques.....	38

Liste des abréviations

% : pourcentage ;

°C : Degré Celsius ;

ml : millilitre ;

mm : millimètre ;

PMA : plantes médicinales et aromatiques ;

CMI : concentrations minimale inhibitrices ;

PDA : Potato Dextrose Agar ;

cm : centimètre ;

HEs : huiles essentielles.

g : gramme

Liste des figures

Figure 1 : Plantes aromatiques et médicinales les plus utilisées au quotidien

Figure 2 : *Verbena officinalis* L.

Figure 3 : Partie florale d'*Origanum vulgare*L.

Figure 4 : Caractéristiques botaniques d'*Origanum vulgare* (Bouhaddouda ,2016).

Figure 5 : Dessin d'*Origanum vulgare* d'après (Ietswaart ,1980)

Figure 6 : Aire de distribution du genre *Origanum* (Ietswaart, 1980).

Figure 7 : Schéma de montage d'extraction par Hydrodistillation

Figure 8 : Schéma du montage vapo-hydrodistillation.

Figure 9 : Schéma hydrodistillation assistée par micro-ondes.

Figure 10 : Schéma de structure chimique de quelque monoterpènes.

Figure 11 : Montage d'hydrodistillation Clevenger

Figure12 : Schéma des étapes d'extraction d'huile essentielle.

Figure13 : Aspect macroscopique de *penicillium* sp

Figure14 : Aspect microscopique de *penicillium* sp. (Gx40).

Figure15 : Histogramme comparatif des rendements des HEs de *O. vulgare* et *V. officinalis*.

Figure16 : Activité antifongique des HEs *O. vulgare* L et *V. officinalis* L

Figure17 : Résultat de la 2^{ème} incubation du disque mycélien traité par HE de l'origan

Figure18 : Essai de conservation des olives par les HEs et les hydrolats

Figure19 : témoin de l'expérience.

Figure 20 : HE *O. vulgare* à 0.6µl/ml

Figure21 : HE *V.officinalis* à 0.6µl/ml

Figure22 : HE *O. vulgare* à 0.2µl/ml

Figure23 : HE *V.officinalis* à 0.2µl/ml

Figure24 : Hydrolat de *V.officinalis*

Figure 25 : Hydrolat de *O. vulgare*

Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques de *Verbena officinalis* L.

Tableau 2 : Dénominations collectifs donnés à l'espèce *Origanum vulgare* L.

Tableau 3 : Caractéristiques d'*Origanum Vulgare*

Tableaux 4 : Milieu de culture et matériel biologique

Tableau5 : Rendement d'extraction des huiles essentielles

Tableau6 : Tableau comparatif des rendements en HEs des deux espèces origan et verveine.

Tableu7 : Evaluation d'activité antifongique des HEs

Tableau8 : Présence ou absence de croissance mycélienne

Introduction

Introduction

Les plantes subissent les attaques de nombreux bio-agresseurs. Parmi eux, les champignons pathogènes causent des maladies sur tout les organes des plantes (**Lepoivre et al, 2003**).

L'olivier (*Olea europaea* L) est un arbre fruitier domestiqué le plus ancien dans le monde et le plus cultivé (**Fabbri et al, 2009**). C'est une espèce sensible à l'attaque d'agents phytopathogènes tels que les champignons, les bactéries et les insectes. Leur développement rapide et insidieux, engendre chaque année la destruction de centaine d'arbre d'olivier. Ces agents occasionnent des dégâts avec des conséquences très importantes sur le rendement et la qualité de récolte. Pour diminuer les pertes de rendement occasionnées sur l'olivier, la méthode de lutte chimique reste la solution la plus efficace. Cependant, les inconvénients liés à l'utilisation répétée des produits de synthèse entraîne souvent la pollution de l'environnement avec une apparition de souches résistantes et augmente la quantité des résidus sur les fruits (**Ozbay et Newman, 2004**).

L'oléiculture est l'un des principaux secteurs stratégiques de l'économie en général et de l'agriculture en particulier. Parmi les objectifs que vise l'oléiculture c'est l'autonomie alimentaire, l'équilibre de la balance de paiement et la réduction du chômage.

La lutte chimique en utilisant des fongicides présente plusieurs inconvénients tels que les problèmes de pollution environnementale qui est aussi considérée comme un problème sérieux pour la santé humaine. De plus, l'utilisation de ces produits de synthèse peuvent stimuler la biosynthèse des mycotoxines et entraîner le développement des souches résistantes (**Kanda, 2003 ; Caron et Laverdiere, 2003**).

Bien que les pesticides ont joués un très grand rôle dans la protection des produits agricoles, la longue durée de leur utilisation depuis leur création s'est révélée dangereuse aussi bien à l'homme qu'à l'environnement. Pour cette cause, la nouvelle technologie s'est penchée sur le contrôle biologique des parasites qui est à la fois efficace et sélective (**Azizeh et al, 2002**).

Il est devenu très indispensable à la recherche de molécules nouvelles en prenant en compte d'autres critères que l'efficacité. Cette recherche s'est orientée vers la lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles antifongiques pouvant constituer une solution alternative

aux produits chimiques. Parmi ces substances naturelles figurent les huiles essentielles extraites des plantes aromatiques (**Adebayo et al, 2010**).

Les plantes aromatiques constituent une richesse naturelle très importante, dont la valorisation demande une parfaite connaissance des propriétés à mettre en valeur. Les propriétés des plantes dépendent de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques (**Mailhebiau, 1994**).

Notre travail a pour objectif d'évaluer l'activité antifongique des huiles essentielles et de l'hydrolat des plantes médicinales sur une moisissure contaminant l'olivier, il s'agit de *Penicillium* sp.

Notre travail comprend les parties suivantes :

Le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique sur les généralités des plantes médicinales et aromatiques étudiées, ainsi qu'une démonstration des différentes méthodes d'extraction des huiles essentielles.

Une partie expérimentale, qui comprend le matériel et les méthodes que nous avons utilisées dans l'évaluation du pouvoir antifongique des deux espèces contre *Penicillium* sp.

Un dernier chapitre présente les résultats obtenus et leur discussion.

Une conclusion sur les principaux résultats obtenus et une comparaison entre HE de *Verbena officinalis* L. et *origanum vulgare* L., présentées pour pouvoir compléter voir améliorer cette étude.

Synthèse bibliographique

I - Plantes médicinales

I-1 – Généralités sur les plantes médicinales et aromatique(PMA)

Dans toutes les régions du monde, l'histoire des PMA est intimement liée à l'évolution des civilisations (Cock, 2011).

Une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés thérapeutiques. Cela signifie qu'au moins une de ses parties (feuille, tige, racine etc.) peut être employée dans le but de se soigner. Elles sont utilisées depuis au moins 7.000 ans avant notre ère par les Hommes et sont à la base de la phytothérapie (Vidal, 2010). Leur efficacité relève de leurs composés, très nombreux et très variés en fonction des espèces, qui sont autant de principes actifs différents.

Depuis toujours, les plantes ont constitué la source de médicaments grâce à la richesse de ce qu'on appelle le métabolisme secondaire. Celui-ci produit des molécules variées permettant aux plantes de contrôler leur environnement animal et végétal. Parmi les milliers de molécules produites par ce métabolisme, l'Homme sélectionne celles qui lui permettent de se défendre contre les agressions d'autres organismes vivants pathogènes (champignons, bactéries, virus.....) (Fouché et al., 2000).

Le continent Africain est un des continents dotés d'une biodiversité la plus riche dans le monde, avec beaucoup de plantes utilisées comme herbes, aliments naturels et pour des buts thérapeutiques. Plus de 5.000 substances naturelles différentes ont été identifiées et beaucoup d'entre elles se sont avérées utiles dans la médecine traditionnelle pour la prophylaxie et le traitement des maladies.



Figure 1 : Plantes aromatiques et médicinales les plus utilisées au quotidien

I-2 Définition des plantes médicinales

La plante médicinale est une plante utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (**Farnsworth et al, 1986**).

Les plantes médicinales sont actives dans différents secteurs sous la forme de principes actifs, des huiles, des extraits ou des solutions, qu'elles soient aqueuses ou biologiques (**Zbalah et Belarbi 2018**)

I-3 Intérêt de l'étude des plantes médicinales

La plupart des espèces végétales contiennent des substances qui peuvent agir, à un niveau ou un autre, sur l'organisme humain et animal. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie. Elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus (**Iserin, 2001**). La raison fondamentale est que les principes actifs végétaux proviennent de processus biotiques répandus dans tout le monde vivant, alors que l'essentiel des médicaments de synthèse sont des xénobiotiques aux effets secondaires très mal maîtrisés (**Bruneton, 2009**)

Les plantes médicinales sont donc importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicaments, directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme modèle pour les composés pharmaceutiquement actifs (**Decaux, 2002**). La tubocurarine, le relaxant musculaire le plus puissant dérive du curare (*Chondrodendron tomentosum*). La morphine, alcaloïde caractéristique des papavers (*Papaver somniferum*) est l'analgésique le plus puissant, utilisé dans la chirurgie lourde et la thérapie anticancéreuse (**Iserin, 2001 ; Bruneton, 2009**). Il est difficile d'imaginer le monde sans la quinine (dérivée du genre *Cinchona*) qui est un alcaloïde anti malarique, sans la digoxine (du genre *Digitalis*) qui est cardiotonique, ou encore l'éphédrine (du genre *Ephedra*) que l'on retrouve dans de nombreuses prescriptions contre le rhume : stimule l'automatisme cardiaque, elle est bronchodilatatrice et stimulante du centre respiratoire bulbaire. (**Iserin, 2001 ; Bruneton, 2009**).

Les plantes aromatiques constituent une catégorie à part, par le fait qu'elles élaborent des substances volatiles, odorantes, caractéristiques appelées *huiles essentielles* (**Iserin, 2001**). Ces plantes connus depuis l'antiquité, sont généralement utilisées en médecine

traditionnelle comme agents antibactériens et antifongiques. Ces propriétés antifongiques ont été confirmées par de nombreux travaux sur les souches de levures, dermatophytes et *Aspergillus* (Pinto et al., 2003 ; Salgueiro et al., 2003), et présentent un potentiel thérapeutique, principalement dans les maladies fongiques impliquant les muqueuses, la peau et autres infections des voies respiratoires. Certaines espèces de *Juniperus*, sont aussi utilisées en médecine populaire comme antiseptiques (Newall et al., 1996). *Juniperus communis* est traditionnellement utilisée pour le traitement des infections urinaires, *Juniperus oxycedrus* est utilisée comme un remède pour les infections dermatologiques (Cosentino et al., 2003) et *Juniperus phoenicea* est considérée comme antimicrobien et antioxydant (Bouzouita et al., 2008 ; Hayouni et al., 2007)

I-4 Domaines d'application des plantes médicinales

Les pays développés utilisent les plantes médicinales en plusieurs domaines, par ce que n'ont pas d'effets secondaire sur homme, environnement. Parmi ces domaines :

- ✚ En médecines en tant que médicament pour l'homme : par exemple les maladies respiratoires, et les maladies chroniques comme cancer ;
- ✚ En cosmétique : parfums, Des produits de beauté ;
- ✚ En alimentation : Assaisonnements, des boissons, des composés aromatiques.

II - Plantes étudiées

II-1- *Verbena officinalis* L.

II-1-1- historique

La verveine est une plante très répandue : elle pousse aussi bien en Europe qu'en Afrique et en Asie. Si elle est utilisée comme plante médicinale depuis des millénaires, les Romains et les Celtes lui ont aussi longtemps attribué des vertus magiques. Cela lui vaut d'ailleurs son surnom "d'herbe aux sorciers"... La verveine était alors aussi bien employée pour concocter des filtres d'amour que conjurer le mauvais sort (Sophie Lavent. 2016).



Figure 2 : *Verbena officinalis* L.

II-1-2- Classification

- **Règne :** plantae
- **Division :** Magnoliophyta
- **Classe :** Magnoliopsida
- **Ordre :** Lamiales
- **Famille :** verbenaceae
- **Genre :** verbena
- **Espèce :** *Verbena officinalis*.

II-1-3- Caractéristiques de la plante

Tableau 1 : Caractéristiques de *Verbena officinalis* L

Non Commun	Verveine officinale, Herbe sacré
Non latin	<i>Verbena officinalis</i>
Famille	Verbénacées
végétation	vivace
Feuillage	Semi-persistent
Hauteur	40 cm à 80 cm
Largeur	25 à 35 cm
Type de sol	Sol argileux, Sol sableux, Sol caillouteux, Terre de bruyère Humus.
PH du sol	Sol neutre Sol acide
Densité	9 à 11/m ²
Exposition	Soleil
Croissance	Normale
Couleur(s) de l'inflorescence	Bleu
Floraison	Juin-octobre. .

II-1-4- Description botanique

- Plante vivace de 40-80 cm, verte, un peu poilue-scabreuse
- tiges dressées ou ascendantes, quadrangulaires, canaliculées alternativement sur 2 faces opposées, rameuses.
- feuilles inférieures pétiolées, ovales ou oblongues en coin, incisées-dentées.

- fleurs bleuâtres ou lilacées, petites, sessiles, en longs épis filiformes lâches disposés en panicule terminale.
- bractées acuminées, plus courtes que le calice
- celui-ci pubescent, subtétragone, à 5 dents courtes inégales
- corolle en entonnoir, a tube saillant, à limbe presque plan et à 5 lobes peu inégaux.
- étamines incluses.
- fruit inclus, oblong, se séparant en 4 carpelles.

II-1-5- Bienfaits de la plante *Verbena officinalis* L.

Les bienfaits de la verveine peuvent être mis à profit de différentes manières, selon le but de son utilisation comme suit : **(Farm Wife 2016)**.

- Les herbes de verveine sont utilisées pour traiter les maux d'estomac causés par les spasmes, les troubles et les ulcères.
- Il agit également pour réduire le cholestérol dans le sang et travaille sur la sécurité et la santé du cœur et le protège de la coagulation et du blocage des artères.
- Il stimule et renforce le système immunitaire humain car il contient de grandes quantités de vitamines et de minéraux.
- Ils contiennent également un grand pourcentage d'antioxydants qui protègent le corps de l'émergence et de la propagation des tumeurs et du cancer.
- L'herbe de verveine a également un rôle efficace dans certaines procédures cosmétiques, car elle agit pour lisser et hydrater la peau et résoudre les problèmes de peau.
- Protège les personnes âgées de la maladie d'Alzheimer car il est riche en substances qui maintiennent l'activation de la mémoire.
- L'une de ses utilisations les plus importantes est qu'il aide à traiter les irritations cutanées causées par les piqûres d'insectes, les infections cutanées et les plaies.

II-2- *Origanum vulgare* L.

II-2-1- Historique

Le nom *Origanum* vient du grec *oros* qui désigne la montagne et *ganos* qui signifie joie. L'origan serait donc « la joie des montagnes » ou « celui qui aime les montagnes » dont il recouvre volontiers les pentes et les coteaux arides. Originaire d'Europe méridionale, plus précisément de Grèce ou de Turquie, on le rencontre également de l'Asie occidentale à

l'Amérique du Nord où il fut introduit par les colons. Appelé également marjolaine sauvage ou marjolaine bâtarde, l'origan est une très ancienne épice dont on retrouve la mention dans des ouvrages culinaires du Moyen Age.



Figure 3 : Partie florale d'*Origanum vulgare*L.

Tableau 2 : Dénominations collectifs donnés à l'espèce *Origanum_vulgare* L. dans différentes langues officielles nationales et régionales d'après (Arvy et Gallouin ,2003)

Origanum vulgare	
Arabe	الزعتر
Anglais	Common marjoram, Oregano
Italien	Origano commune
Allemand	Dost, Wohlgemuthe, Origano

II-2-2- Caractéristiques de la plante de *Origanum Vulgare* L

Tableau 3 : Caractéristiques d'*Origanum Vulgare* L.

Genre	Origanum
Espèce	vulgare
Famille	lamiaceae
Rusticité	Résistant jusqu'à -28°C
Taille	40 cm x 40 cm
Parfum	Feuillage aromatique
Résistance à la sécheresse	Besoin en eau moyen
Hauteur en fleur	30 à 50 cm
Exposition	soleil
Couleur	Rose
Nature du feuillage	semi-persistant
Période de floraison	été
Plante parfumée	feuillage aromatique
pH du sol	Acide / Neutre (6.5 < Ph < 7.5) Basique (calcaire Ph > 7.5)
Nature du sol	s'adapte à tous les sols
Zone de rusticité	Z5 : - 28°C à - 23°C
Type de plante	Plante vivace



Figure 4 : Caractéristiques botaniques d'*Origanum vulgare* (Bouhaddouda ,2016).

II-2-3- Classification

Selon Balfour (1860) 'origan est classé dans :

- Règne : Plantae
- Embranchement : Angiosperme
- Classe : Magnolipsida
- Sous classe : Astérida
- Ordre : Lamiales
- Famille : Lamiaceae
- Sous famille : Stachyoidae
- Genre : *Origanum*
- Espèce : *Origanum vulgare*

II-2-4- Description botanique

Origanum vulgare appelée aussi origan est une plante vivace, aromatique à tiges érigées, dressés, grêles à section carrée à arêtes saillantes, souvent rougeâtre de 20-80 cm. Le haut ramifié dans le haut (Mahmodi Yahia. 1990).

- Les feuilles ovales, aiguës, pétiolées à bord peut denté opposées et de grandeur très variables, les inférieurs sont les plus grands Les fleurs roses pâles, groupées en inflorescence à l'extrémité des rameaux.

Ce qui constitue le cas unique chez les labiées. Calice à 5 lobes aigus, corolle à 4 pétales, en tube deux fois plus longue que le calice. Le tétrakène et lisse de couleur sombre. Contenu dans le calice devenu coriace.

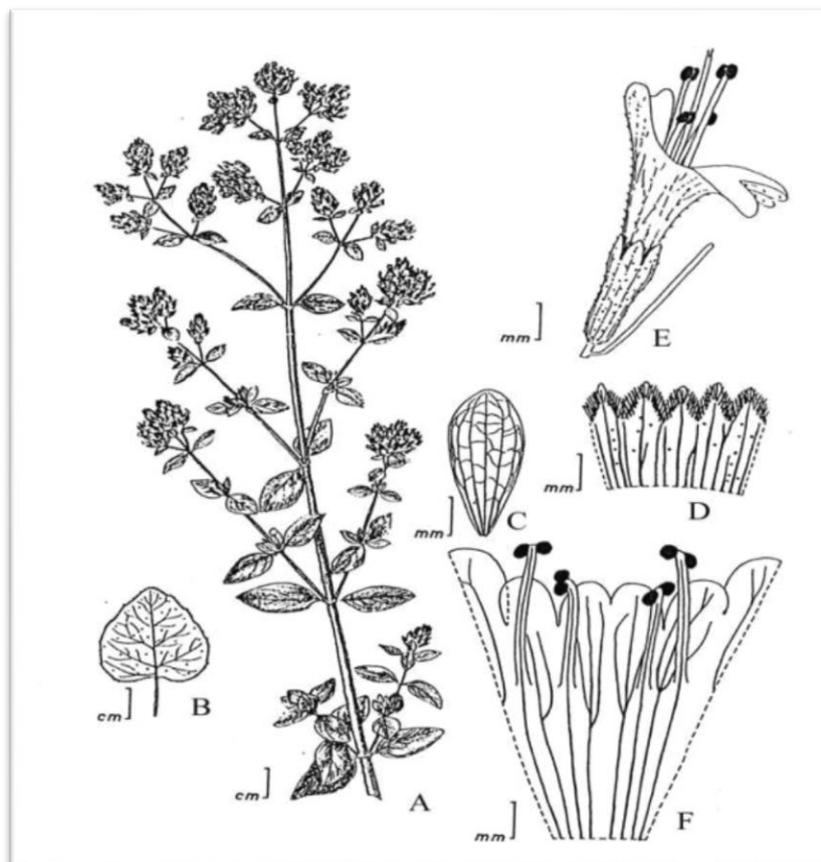


Figure 5 : Dessin d'*Origanum vulgare* d'après (Ietswaart, 1980)

II-2-5- Distribution géographique dans le monde

Le genre *Origanum* est principalement réparti autour du bassin Méditerranéen (**figure 05**) dont 81% des espèces se distribuent exclusivement dans l'Est Méditerranéen, essentiellement en Turquie, en Grèce et au Moyen Orient (**Taylor et Francis, 2002**). L'espèce d'*Origanum vulgare* est largement distribuée en Euro-Asie et en Afrique du Nord. L'aire géographique s'étend jusqu'aux Açores, îles Canaries, Bretagne, Scandinavie et Chine et Taiwan (**Taylor et Francis, 2002**)

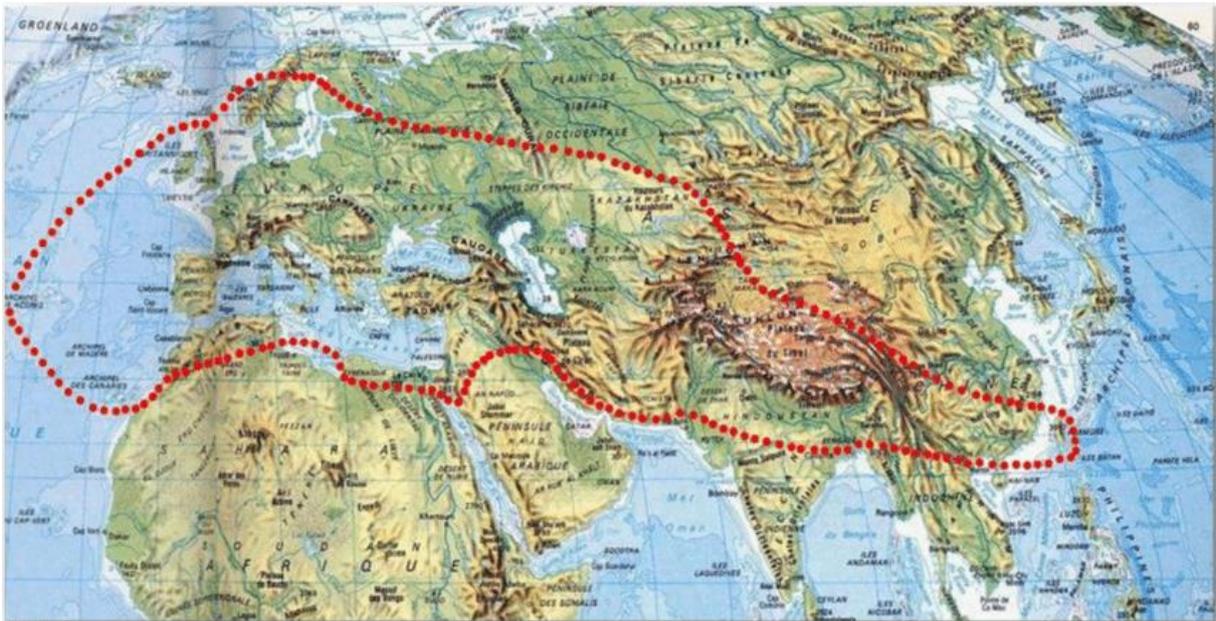


Figure 6 : Aire de distribution du genre *Origanum* (Ietswaart, 1980).

II-2-6- Utilisations médicales de la plante

✚ Rhumes et gripes

- Combat les infections virales et bactériennes des voies respiratoires.
- Augmente la puissance du système immunitaire.
- Allège la congestion des poumons, des sinus et soulage la toux.
- Aide à soigner la bronchite, sinusite, pneumonie

✚ Problèmes de peau

- Réduit l'acné et débloque les pores.
- Protège la peau sèche et soigne les infections, piqûres d'insectes.

- Traite le psoriasis et l'eczéma, soulage les coups de soleil.
- Combat les champignons sous les ongles des pieds et des mains

Conditions digestives

- Soulage l'indigestion, les nausées, les diarrhées et les gaz.
- Diminue les douleurs et les malaises.

Infections

- infections parasitaires (*Candida albicans*)
- Infections urinaires, efficace contre le bouton de fièvre
- Nettoie les dents (poudre d'origan) et rafraîchit l'haleine.

III- Huiles essentielles

III-1- Définition des huiles essentielles

Selon la Pharmacopée Européenne (2011), une HE est un « produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition ». En pratique, il est possible d'obtenir une HE à partir de la plante entière ou bien seulement à partir de certaines parties de la plante telle les fleurs, bourgeons, grains, feuilles, bois, écorce, fruits, racines, tiges et brindilles (**Brenes et Roura 2010**).

On peut aujourd'hui ainsi obtenir plus de 3 000 sortes d'HE, dont 300 sont commercialisées à des fins très diverses (en pharmacie, parfumerie, cosmétique), comme produits phytosanitaires, comme sources d'arômes (pour masquer l'odeur des produits ménagers ou comme arôme alimentaire) et enfin en alimentation humaine et animale (**Brenes et Roura 2010**). Les propriétés antibactériennes de certaines d'entre elles peuvent également justifier leur utilisation.

Le terme « huile » s'explique par la propriété que présentent ces composés de se solubiliser dans les graisses et par leur caractère hydrophobe. Le terme « essentielle » fait référence au parfum, à l'odeur plus ou moins forte, dégagée par la plante.

III-2-Localisation des HEs dans les plantes

Les huiles essentielles sont présentes en très petite quantité : 1 à 2 % de la matière sèche au maximum, peuvent être stockées dans différents organes végétaux (feuilles, racines, écorces...). (Couderc, 2001).

Les huiles essentielles sont très répandues dans le règne végétal, on les rencontre surtout dans les phanérogames, mais quelques cryptogames en renferment également. Dans la plupart des cas, les essences se trouvent toutes formées dans les différents organes, elles sont alors localisées soit dans les glandes des poils sécréteurs, soit dans des réservoirs intracellulaires ayant la forme des canaux (Danielle Huard, 1999).

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : Feuilles, fleurs, écorces, bois, racines, des rhizomes, fruits et des graines. La synthèse et l'accumulation sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante : cellules à l'huile essentielles des Lauraceae ou des Zingiberaceae, poils sécréteurs des Lamiacées, des poches sécrétrices des Myrtaceae ou des Rutaceae, canaux sécréteurs des Apiaceae ou des Asteraceae (Bruneton, 1993).

III-3- Rôle des HEs dans les plantes

Le rôle essentiel des HE au sein d'une plante n'est pas encore bien éclairci. Les études qui ont été réalisées dans ce sens suggèrent que ces essences constituent un moyen de défense contre les prédateurs (micro-organismes, champignons, insectes, herbivores) en modulant les comportements de ceux-ci vis-à-vis des plantes. (Rauha JP et al 2000) .

. Elles peuvent aussi jouer un rôle important comme des modérateurs des réactions d'oxydation intramoléculaires protégeant la plante contre les agents atmosphériques. Les plantes aromatiques utilisent les HE également pour inhiber la germination et le développement d'autres espèces végétales dans leur voisinage (effet allélopathique). (De Feo, Et al, 2002)

III-4- Fonctions biologiques des huiles essentielles

Bien que de nombreuses hypothèses aient été avancées pour expliquer les raisons de la synthèse de l'essence par la plante, nul ne sait avec exactitude les raisons pour lesquelles la plante fabrique son essence (**Richard, 1992**).

Mais ce qui est probable, c'est que le rôle des HEs au niveau du matériel végétal est intimement lié à leur situation par exemple ces huiles confèrent un rôle répulsif vis-à-vis des prédateurs ; attractifs pour les insectes pollinisateurs. un feuillage renfermant une teneur élevée en essences végétales (laurier) le protège des herbivores. La présence de HE au niveau des racines, des écorces, des bois, confère à la plante un effet antiseptique vis-à-vis des parasites telluriques.

Certains terpènes linéaires interviennent dans le métabolisme de la plante, ils peuvent être employés comme source énergétique (**Guignard, 1996**).

III-5- Procédés d'extraction des huiles essentielles

Différentes méthodes d'extraction sont utilisées, le choix de la technique dépendra de la partie de la plante sélectionnée, du rendement souhaité, de la durée d'extraction, du coût... A titre d'exemple, la fleur de lavande contenant plus d'HE que la tige, la distillation de la fleur présentera un meilleur rendement que celle de la tige. Quel que soit la méthode utilisée, la composition moléculaire d'une HE doit rester identique au cours de l'extraction (**Muther, 2015**).

III-5-1-Distillation

La distillation peut être définie comme étant la séparation des constituants d'un mélange de deux ou plusieurs composants en fonction de leur température de passage à l'état gazeux (ébullition ou sublimation). La distillation peut s'effectuer avec recyclage de l'eau de distillation, ou sans recyclage. La production des huiles essentielles se ferait donc en deux étapes : la diffusion de l'huile essentielle de l'intérieur des tissus vers la surface du matériel végétal, et l'évaporation et entraînement à la vapeur d'eau. (**Benjilali, 2004**).

Il existe deux principaux modes de distillation ; hydrodistillation et la distillation à la vapeur d'eau qui sont décrites brièvement ci-dessous.

III-5-1-1 Hydro distillation simple

Elle est de loin le procédé le plus répandu, car il convient à la majorité des plantes c'est la méthode normalisée pour l'extraction d'une huile essentielle, ainsi que pour le contrôle qualité. Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique (Fasty D., 2007.). La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotrope. Sachant que la température d'ébullition d'un mélange est atteinte lorsque la somme des tensions de vapeur de chacun des constituants est égale à la pression d'évaporation, elle est donc inférieure à chacun des points d'ébullition des substances pures. Ainsi le mélange azéotrope « eau + huile essentielle » distillé à une température égale 100°C à pression atmosphérique alors que les températures d'ébullition des composés sont pour la plupart très élevées, la vapeur d'eau ainsi restée de ces essences est envoyée dans un compartiment pour y refroidir. Là, la vapeur redevient donc liquide et les huiles s'en désolidarisent (elles flottent à la surface). On les récupère alors par décantation (Franchomme P, et al, 1990).

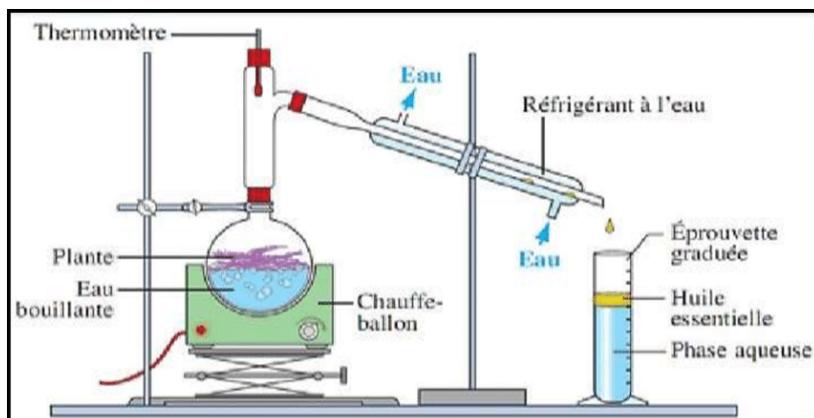


Figure 7 : Schéma de montage d'extraction par Hydrodistillation

III-5-1-2- Distillation à la vapeur

Cette méthode a les mêmes principes et avantages que l'hydro-distillation à la vapeur, mais la génération de vapeurs se produit en dehors de l'alambic de distillation (Masango P 2005). La vapeur peut alors être saturée ou surchauffée à une pression légèrement supérieure à la pression atmosphérique, la vapeur est introduite dans la partie inférieure de l'extracteur et

passé donc à travers la charge de la matière première. Cette technique évite certains artefacts par rapport à l'hydro-distillation

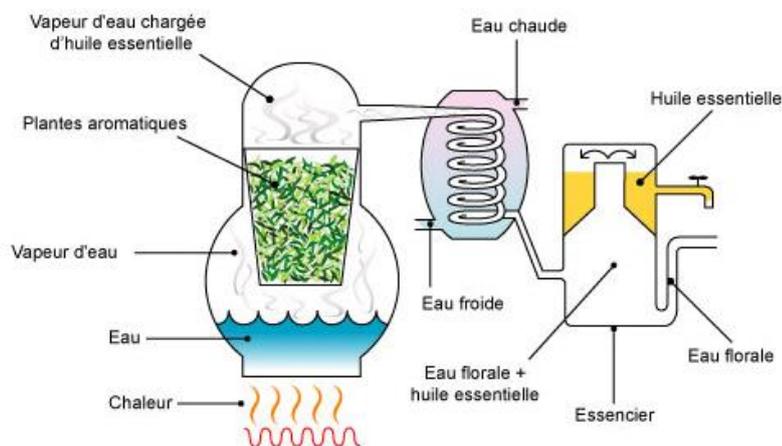


Figure 8 : Schéma du montage vapo-hydrodistillation (Mériem Boutamani,2013).

III-5-2- Hydro-diffusion

Il s'agit d'un cas particulier de la distillation à la vapeur où le flux de vapeur se produit vers le bas. Il est également appelé hydro-diffusion vers le bas ou hydro-diffusion et gravité (El Asbahani A, et al, 2015).

III-5-3-Extraction aux solvants organiques

Cette méthode d'extraction est basée sur les propriétés physiques des essences aromatiques qui sont solubles dans la plupart des solvants organiques. L'extraction se fait dans des extracteurs de construction variée. Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un

Solvant à bas point d'ébullition qui par la suite, sera éliminé par distillation sous pression réduite.

L'évaporation du solvant donne un mélange odorant de consistance pâteuse dont l'huile est extraite par l'alcool. L'extraction par les solvants et leur manque de sélectivité peuvent entraîner de nombreuses substances lipophiles (huiles fixes, phospholipides, caroténoïdes, cires, coumarines) dans le mélange pâteux et imposer par conséquent une purification ultérieure (Shellie R, et al, 2004).

Le solvant choisi, en plus d'être autorisé, devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène. Sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait (**Wan PJ,**

Et al, 1995).

III-5-4-Extraction par micro-ondes

C'est une technique récente développée dans le but d'extraire des produits naturels comparables aux HEs et aux extraits aromatiques. Dans cette méthode, la plante est chauffée par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte dont la pression est réduite de façon séquentielle : les molécules volatiles sont entraînées dans le mélange azéotrope formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée (**M. Romdhane, 1993).**

Ce chauffage, en vaporisant l'eau contenue dans les glandes oléifères, crée à l'intérieur de ces dernières une pression qui brise les parois végétales et libère ainsi le contenu en huile

Les auteurs de ce procédé lui attribuent certains avantages tels que le temps d'extraction (dix à trente fois plus rapide), l'économie d'énergie et une dégradation thermique réduite (**M.E.Lucchesi, 2005).**

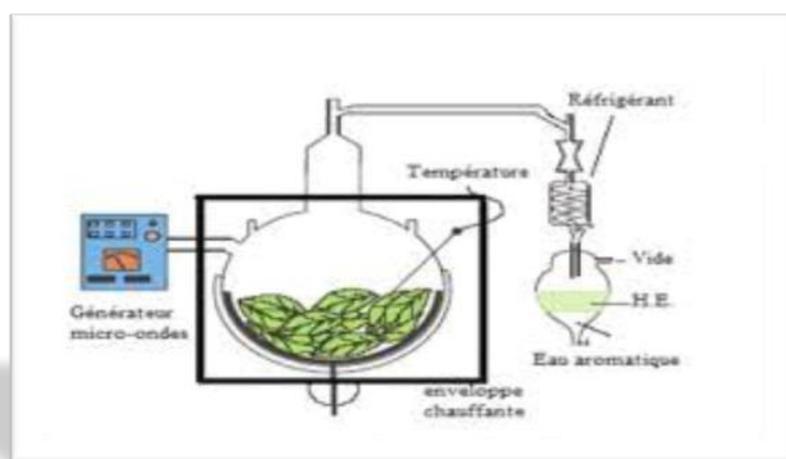


Figure 9 : Schéma hydrodistillation assistée par micro-ondes (**Mériem Boutamani, 2013).**

III-5-5-Extraction par expression

Cette méthode est abandonnée au bénéfice des machines utilisées pour permettre l'extraction des jus des fruits d'une part, et d'essence d'autre part (**Belaiche, 1979).**

III-6-Composition chimique des huiles essentielles

L'étude de la composition chimique des HE révèle qu'il s'agit de mélanges complexes et variables de constituants appartenant exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétique distinctes : les terpénoïdes et les composés aromatique dérivés du phenylpropane (**Gildo ,2006**).

III-6-1- Terpéniques

D'une manière générale, ces huiles essentielles ne contiennent que les terpènes les plus volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée : mono- et sesquiterpènes.

Ce sont des hydrocarbures ayant respectivement dix et quinze atomes de carbone. Ils peuvent être saturés ou insaturés, acycliques, monocycliques, bicycliques ou polycycliques.

Ils peuvent également être accompagnés de leurs dérivés oxygénés : alcools, esters, éthers, aldéhydes, cétones, (**Bruneton, 1999**).

III-6-2- Monoterpènes

Les composés monoterpéniques sont constitués de deux unités d'isoprène, leur formule chimique brute est $C_{10}H_{16}$ (**Rahal, 2004**).

Ces composés peuvent être : monoterpènes acycliques (myrcène, ocimènes), monoterpènes monocycliques (α - et γ - terpinène, p-cymène) et monoterpènes bicycliques (pinènes, Δ^3 -carène, camphène, sabinène. (**Figure 10**).

III-6-3 -Sesquiterpènes

Les sesquiterpènes sont de structures très diverses (C_{15}) : les carbures, les alcools et les cétones sont les plus fréquents) (**bruneton, 2008**).

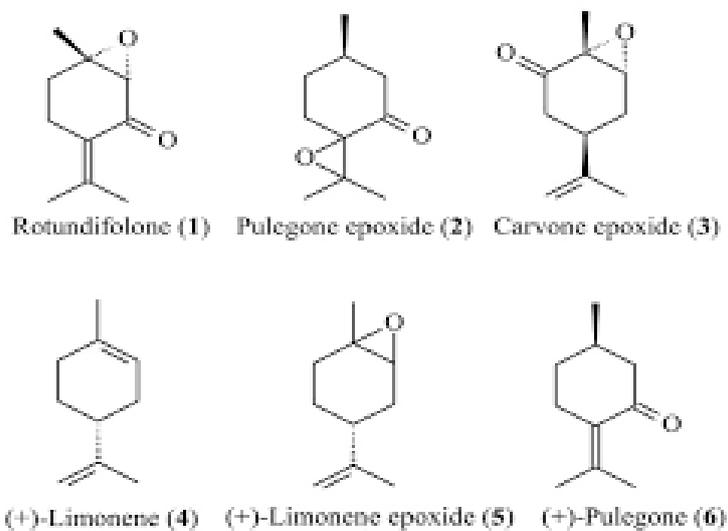


Figure 11 : Schéma de structure chimique de quelques monoterpenes.

Matériel et Méthodes

Notre travail dans laboratoire d'écologie et gestion des écosystèmes naturels à l'université d'Abou Bakr Belkaid Tlemcen. la période de ce travail pendant 3 mois.

II- Matériel végétal

Dans cette étude, les échantillons du matériel végétal utilisé (*Verbena officinalis* L. et *Origanum vulgare* L.), ont été acheté d'une herboristerie. Les feuilles sont laissées sécher à l'ombre à une température ambiante dans un endroit aéré pendant 15 jours. C'est la partie aérienne qui a été hydrodistillée.

II- Matériel du laboratoire

Au laboratoire d'écologie et gestion des écosystèmes naturels à l'université d'Abou Baker Belkaid Tlemcen. Le matériel suivant était à notre disposition :

- Autoclave (120° à 15 min)
- Une plaque chauffante
- Les micropipettes ou pipettes Pasteur
- Spectrophotomètre
- Agitateur vortex
- Bec benzène
- Etuve microbienne

III- Matériel fongique

Le genre *Penicillium* est un champignon (ou moisissure) qui fait partie des ascomycètes. Ce genre présente une grande importance dans le milieu naturel ainsi que dans la production de plusieurs médicaments. Certaines espèces de ce genre produisent la pénicilline, cette molécule est plus utilisée comme antibiotique, qui tue ou arrête le développement bactérien (Harjunpaa, 1996).

Tableaux 4 : Milieu de culture et matériel biologique

Matériel biologique	Espèce	Milieu de culture
Moisissure	<i>Penicillium</i> sp	PDA (Potato Dextrose Agar)

VI- Extraction des huiles essentielles

Il y a plusieurs méthodes d'extractions des H.E citées dans la littérature. La méthode d'extraction réalisée dans le présent travail est l'hydrodistillation dans un Appareil de type Clevenger (**figure11**).



Figure 11 : Montage d'hydrodistillation Clevenger (**Image originale**).

VI-1- Mode opératoire

- Deux cents grammes (200 g) des feuilles séchées (pour chaque plante) mises dans un ballon de 6L ;
- Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'une chauffe ballon.
- La durée de distillation est comprise entre 04 et 06 heures (selon la matière végétale) ;
- Les vapeurs d'eau et les huiles essentielles passent à travers le tube vertical ;
- Puis dans le réfrigérant où aura lieu la condensation ; les gouttelettes d'eau ainsi produites s'accumulent dans le tube ; rempli au préalable d'eau distillée. En raison de la différence de densité, l'huile essentielle surnage à la surface de l'eau.
- Plus d'explications sont présentées dans le schéma suivant :

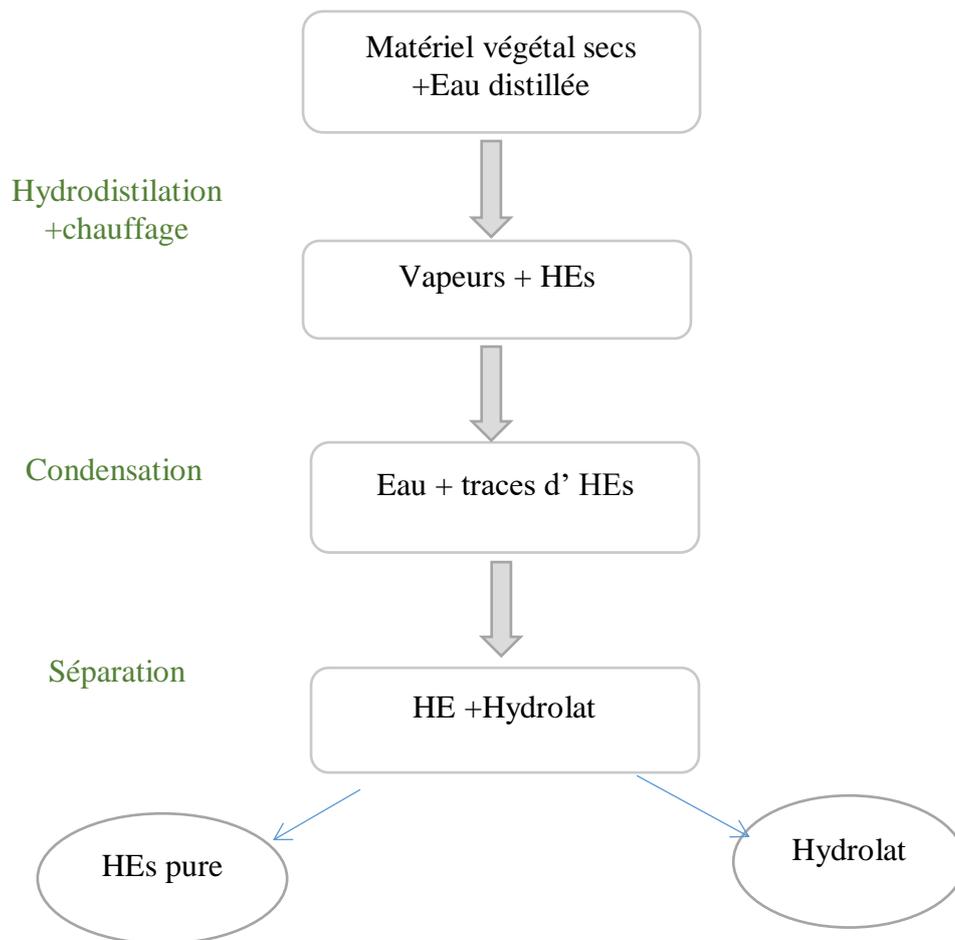


Figure12 : Schéma des étapes d'extraction d'huile essentielle.

VI-2- Détermination des rendements en huiles essentielles :

Le rendement est le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal utilisé pour cent. Après récupération des huiles essentielles (Afnor, 2000), le rendement est calculé par la formule suivante en pourcentage (%) :

$$\text{Rdt} = \frac{\text{P2}}{\text{P1}} \times 100$$

P1 : Poids de la matière végétale.

P2 : Poids de l'huile essentielle.

VI-3- Conservation des huiles essentielles

Après extraction de HE des feuilles de *Origaum vulgare* L. et *Verbena officinalis* L. les huiles essentielles obtenues ont été conservé dans des flacons en verre teinté bien fermés, et mis dans le réfrigérateur à une température voisine de 4°C, pour les préserver de l'air, de la lumière et des variations de température.

V- Tests antifongiques

V-1- Milieu de culture PDA

Le milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar) est composé de pomme de terre, de glucose, et d'Agar-agar. Le protocole de préparation du milieu en condition d'asepsie totale est le suivant : 200 g de pommes de terre épluchées sont découpées et mis à ébullition dans un récipient contenant 500 ml d'eau distillée pendant 30 mn ; puis, les pommes de terre sont retirées et le bouillon est transvasé dans un ballon contenant 20 g de glucose et 15 g d'Agar-agar ; ensuite, la solution est complétée à 1 l avec de d'eau distillée. Ce milieu est autoclavé à 120 °C pendant 30 mn sous une pression d'un bar. L'acide citrique (bactéricide) est ajouté au milieu au moment de sa distribution dans les boîtes de pétri et les tubes à essai sous la hotte en présence d'une flamme à raison de 5 mg/l (Dedi, 2007)

V-2- Evaluation du potentiel antifongique

La réalisation de l'étude de l'activité antifongique des huiles essentielles de *V. Officinalis* L. et *O. Vulgare* L. vis à vis de *Penicillium* sp, a été faite par la méthode de contact direct qui permet la mise en évidence de l'activité antifongique (fongistatique ou fongicide) des huiles essentielles (Fanon et al., 2005).

V-3-Croissance radiale de *Penicillium* sp

Pour l'évaluation du pouvoir antifongique de phytopathogène de l'olivier, nous nous sommes inspirés des travaux de Leroux P. et Credet A., (1978). La mesure de la croissance radiale moyenne du mycélium de notre souche fongique a été effectuée quotidiennement jusqu'à ce que dans les lots témoins, les filaments mycéliens atteignent la périphérie de la boîte de Pétri. Elle a été réalisée en millimètre à partir de deux axes perpendiculaires tracés au revers de la boîte de Pétri. Ces mesures ont permis de déterminer le taux d'inhibition de la croissance radiale mycélienne.

V-4- Détermination de l'Indice antifongique

$$Ia (\%) = \frac{(Dt - d)}{Dt} \times 100$$

Ia : Taux d'inhibition

Dt : Croissance mycélienne dans les boîtes témoins

d : Croissance mycélienne dans les boîtes essais

Un volume de 10 ml de milieu de culture (PDA) auquel nous avons ajouté des volumes de 10µl ; 30µl ; 50µl d'huile essentielle. Le mélange a été coulé dans des boîtes de Pétri. Après le refroidissement et la solidification sur la paille et près du bec Bunsen, des disques mycéliens de 6 mm de diamètre issues de la marge d'une culture âgée de 5 à 7 jours, ont été placés au centre de chaque boîte de Pétri (1 disque / boîte). Chaque concentration a été répétée deux fois. Le témoin a été réalisé dans les mêmes conditions sans huiles essentielles.

V-5- Utilisation de l'hydrolat pour la conservation des olives

L'hydrolat est la vapeur d'eau condensée que l'on sépare de l'HE à la sortie de l'alambic. L'hydrolat est chargé en molécules aromatiques hydrosolubles du végétal et contient une très faible quantité d'huile essentielle (0,05 et 0,1%) (**Baudoux et al., 2006 ; Festy, 2008**).

Nous prenons une quantité de 50 grammes d'olives et la mettons dans des tasses en verre, puis versons l'eau distillée de 50 ml

Nous prenons une quantité de 50 grammes d'olives et les mettons dans 14 tasses en verre ;

- 2 tasses de témoin (50 g d'olive + 50 ml d'eau distillée)
- 2 tasses d'hydrolat d'origan (50 g d'olive + 50 ml d'hydrolat)
- 2 tasses d'hydrolat de la verveine (50 g d'olive + 50 ml d'hydrolat)
- 2 tasses pour la concentration 0.6µl/ml d'HE d'origan (50 g d'olive + 50 ml d'eau distillée + 30µl d'HE).
- 2 tasses pour la concentration 0.6µl/ml d'HE de la verveine (50 g d'olive + 50 ml d'eau distillée + 30µl d'HE).

- 22 tasses pour la concentration 0.2µl/ml d'HE d'origan (50g d'olive+50ml d'eau distillée hydrolat+ 10µl d'HE).
- 22 tasses pour la concentration 0.2µl/ml d'HE de la verveine (50g d'olive+50ml d'eau distillée + 10µl d'HE).

V-6- Détermination de la CMI

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) est la plus faible concentration de produit qui inhibe la croissance microbienne. Elle caractérise le couple antibiotique / bactérie, chaque souche ayant sa propre valeur, en fonction des résistances naturelles et/ou acquises pour la molécule testée. La CMI peut être déterminée lors de l'antibiogramme. Plus elle est élevée, plus elle s'approche de la concentration critique haute, et plus le risque d'échec thérapeutique est important. (**Laboratoire BIO67-BIOSPHERE, 2013**)

- Premièrement en utilise 7 tubes , pour chaque HE (14 en tout);
- Nous mettons 200µl de DMSO dans tous les tubes ;
- Dans le 1^{er} tube on rajoute 200 µl de HE c'est la suspension mère ;
- A l'aide d'une micropipette on mélange la suspension dans le 1^{er} tube et transférer 200 µl de suspension vers le 2eme tube ;
- On répète la même opération avec les autres tubes, c'est une dilution en cascade.

Résultats et discussion

I- Identification de la moisissure isolée des olives

L'identification de la souche fongique s'est basée sur l'étude microscopique et macroscopique.

I-I- Identification macroscopique

Après 7 jour d'incubation de notre moisissure sur le milieu PDA, le thalle a un aspect poudreux de couleur verte dans toute la boîte de pétri, avec un revers jaunâtre. (**Figure13**)



Figure13 : Aspect macroscopique de *penicillium* sp (**image original**).

I-2- Identification microscopique

Au plan microscopique, il s'agit d'un champignon dont les filaments sont hyalons et septé. Les conidiophores ramifiés ou non, donnent naissance à des métules. Ces métules forment elles-mêmes des phialides cylindriques organisées en pinces, qui produisent les conidies (spores qui peuvent être lisses ou rugueuses) rangées en chaînes non ramifiées (**Patterson et al. 2009**) (**figure14**).

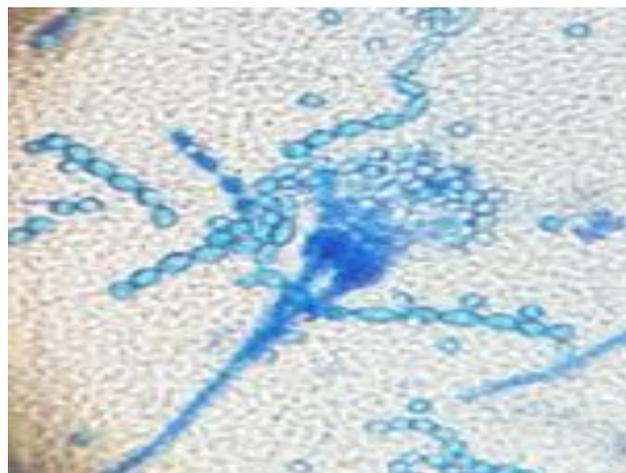


Figure14 : Aspect microscopique de *penicillium* sp. (Gx40) (**image original**)

II- Détermination du rendement en HE

Les rendements de l'extraction de l'HE ont été calculé en fonction de la matière végétale sèche de 200 (g) de la partie aérienne des deux plantes aromatiques *Verbena officinalis* L et *Origanum vulgare* L et sont récapitulés dans le tableau suivants :

Tableau5 : Rendement d'extraction des huiles essentielles

Espèces	Poids de la matière végétale(g)	Poids obtenu	d'HE	Rendement(%)
<i>Origanum vulgare</i>	200	2.68		1.34
<i>Verbena officinalis</i>	200	0.22		0.11

Les résultats montrent que la *Verbena officinalis* est relativement faible(0,11) par rapport au rendement de *Origanum vulgare* qui est important (1,34). Plusieurs extractions ont été faites pour récupérer la quantité nécessaire, afin de pouvoir réaliser les tests antifongiques. La différence entre les rendements des deux plantes étudiées est représentée dans l'histogramme suivant :

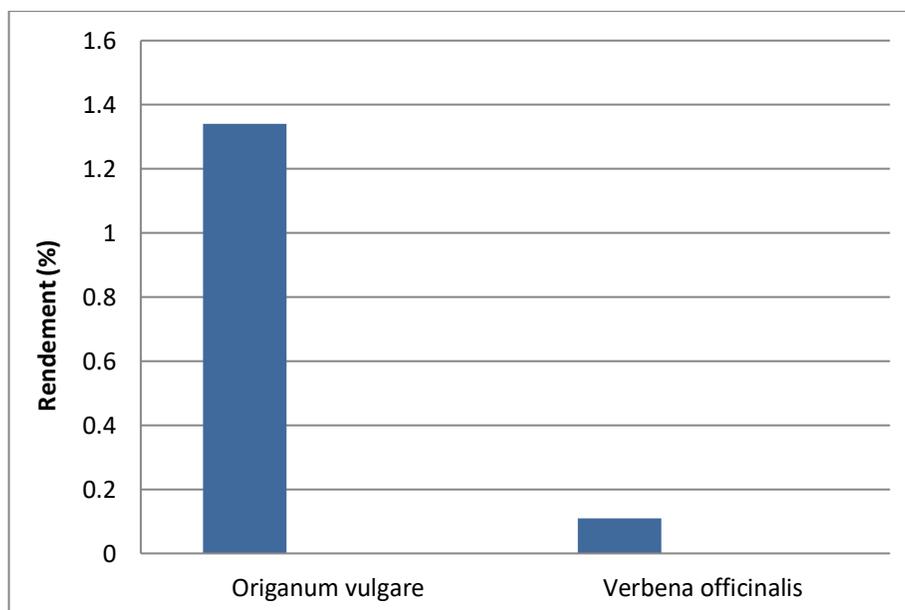


Figure15 : Histogramme comparatif des rendements des HEs de *O. vulgare* et *V. officinalis*.

En comparant nos résultats avec ceux d'**Aroui Hamza et Hallil Tayeb (2016)**, réalisés dans la région d'Akbou sur la partie aérienne de plantes appartenant au même genre *Verbena* ont donné un rendement supérieur (2,12) par rapport à notre rendement, qui est de l'ordre de 0,11.

Tandis que le rendement d'*Origanum vulgare* est de l'ordre de 1,34, ce qui est un peu important par rapport à celui obtenu par **Derwich et al. (2010)** après extraction de l'origan du Maroc (1.15). Le rendement de l'espèce *Origanum vulgare* obtenu par **Mechergui et al, (2010)** a une valeur entre (0,1-0,7%). Qui sont les plus faibles rendements obtenus en Tunisie.

Le rendement le plus élevé(2,52) a été obtenu par **Bouhaddouda et al. (2016)** de la même espèce poussant en Algérie (Guelma).

La différence observée entre les rendements de la même espèce est du probablement aux facteurs suivants :

- Le temps de l'hydrodistillation ;
- La durée de séchage ;
- La saison de récolte de l'espèce ;
- La station d'échantillonnage.

Le tableau 6 représente les différents rendements obtenus pour les mêmes espèces utilisées dans cette étude dans différentes station de la méditerrané.

Tableau 6 : Tableau comparatif des rendements en HEs des deux espèces origan et verveine.

Espèces	Région	Rendements	Références
<i>Verbena officinalis</i>	Akbou	2,12	Aroui Hamza et Hallil Tayeb 2016
	Tlemcen	0.11	Notre travail
<i>Origanum vulgare</i>	Maroc	1,15	Derwich et al. (2010)
	Tunisie	0,1-0,7	Mechergui et al, 2010
	Guelma	2,52	Bouhaddouda et al. (2016)
	Tlemcen	1.34	Notre travail

III- Evaluation de l'activité antifongique des plantes étudiées

III-1- Evaluation de l'activité antifongique des HEs

Le pouvoir antifongique des HEs du *Origanum vulgare* L et *Verbena officinalis* L a été évalué par la technique de croissance radiale pour la moisissure *penicillium* sp.

D'après les résultats obtenus après incubation de *penicillium* sp. pendant 7 jours on a calculé l'indice antifongique (tableau8)

Tableau 7 : Evaluation de l'activité antifongique des HEs

	Témoin	HE <i>O.vulgare</i>		HE <i>V. officinalis</i>	
Concentrations (µl/ ml)		1	3	1	3
Diamètre (cm)	9	0		0	
IA(%)	0	100		100	
Test antifongique		fongicide		fongistatique	

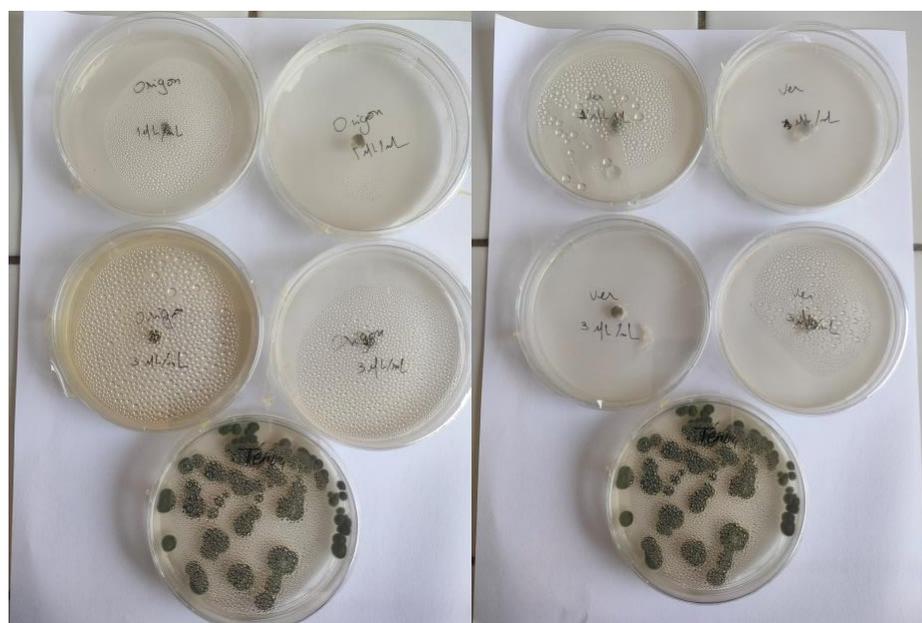


Figure16 : Activité antifongique des HEs *O. vulgare* L et *V. officinalis* L(image original).

Pour les boîtes présentant un taux d'inhibition de 100% ; les disques mycéliens ont été transféré dans de nouvelles boîtes de pétri ; puis placé dans l'étuve pendant 7 jour, afin de conclure si notre produit est fongicide ou fongistatique.

Après 7 jours on a observé une petite croissance dans le disque à différente concentration (1 $\mu\text{l/ml}$ et 3 $\mu\text{l/ml}$) de la verveine. D'autre part l'absence de croissance dans les disques de l'origan ; c'est-à-dire la verveine et fongistatique et l'origan est fongicide.

Le résultat de 2eme incubation d'origan et dans la figure suivante :



Figure17 : Résultat de la 2^{ème} incubation du disque mycélien traité par HE de l'origan (**image original**).

Les résultats obtenus sur le test d'activité antifongique de l'HE de l'espèce *O. vulgare* sur le champignon *Mucor* sp, ont montrées un forte d'inhibition de la croissance radiale du champignon (100%), diamètre d'inhibition 9 cm (**Bencharif Abdellatif 2018**) par rapport les résultats de notre travail aucune croissance (0%), à diamètre d'inhibition 0 cm.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) d'HE de *O. vulgare* L. est de 0.125 $\mu\text{l/ml}$.

Par contraire les résultats obtenus de (**Bencharif Abdellatif 2018**) du test de dilutions d'HE, que l'inhibition de la croissance mycélienne radiale du *Mucor* sp accroît avec l'augmentation de la concentration de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare*, La concentration minimale d'inhibition (CMI) a été avec la dilution 25%.

III-2- Evaluation de l'activité antifongique des Hydrolats

Après avoir prouvé l'efficacité des HEs des plantes utilisées dans la diminution voir l'éradication de la croissance de notre moisissure « *Penicillium sp.* ». Nous avons pensé à tester leur pouvoir conservateur des olives de tables. Les résultats sont représentés dans le tableau 8 et la figure 18.

Tableau 8 : Présence ou absence de croissance mycélienne

Concentrations	Croissance mycélienne
Temoin	+ + + +
HE d'origan 0.6µl/ml	+
HE d'origan 0.2µl/ml	+ +
HE de la verveine 0.6µl/ml	+ +
HE de la verveine 0.2µl/ml	+ + +
Hydrolat de l'origan	+
Hydrolat de la verveine	+ +

(+) représente la présence de Croissance mycélienne

(-) représente l'absence des Croissance mycélienne

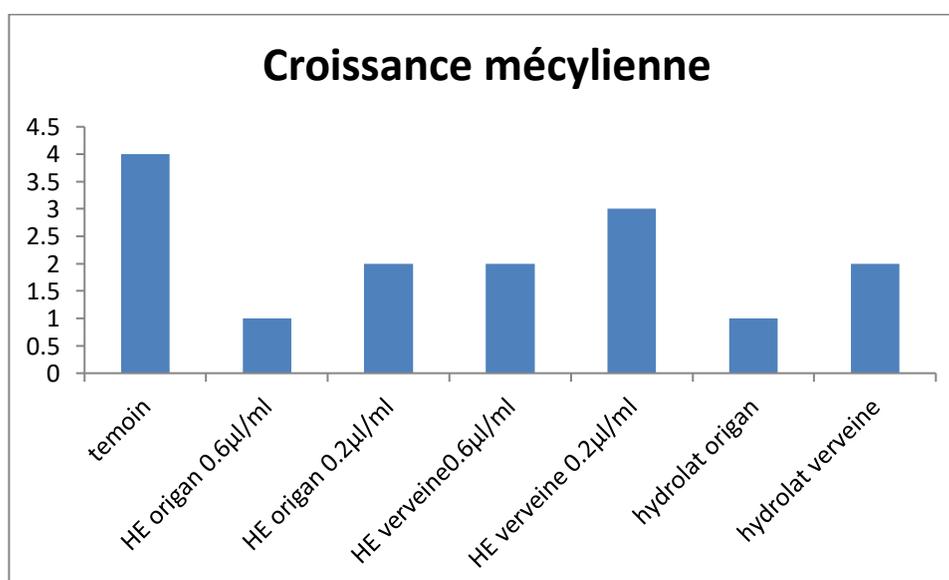


Figure18 : Essai de conservation des olives par les HEs et les hydrolats

En comparant les résultats de conservation des olives par l'utilisation des HEs et des hydrolats des deux plantes :

Premierment la figure suivante montre une croissance importante de l'agent responsable de la détérioration des olives. Il s'agit de témoin.



Figure19 : Témoin de l'expérience(**image original**).

1. Pour la concentration de 0.6µl/ml d'origan on observe qu'il y a une faible croissance sur la surface par rapport au témoin (**figure20**) .



Figure 20 :HE *O. vulgare* à 0.6µl/ml (**image original**).

2. Pour la concentration de 0.6µl/ml de verveine ; les croissances mycéliennes sont importantes par rapport à l'origan, mais moins importantes que le témoin (**figure21**)



Figure21 : HE *V.officinalis* à 0.6µl/ml(**image original**).

3. D'autre part : pour la concentration 0.2µl/ml d'origan nous avons remarqué plus de colonies mycéliennes à la surface, en le comparant avec l'autre échantillon de l'origan. Cela est dû à la différence dans les concentrations du principe actif (**figure 22**).



Figure22 : HE *O. vulgare* à 0.2µl/ml(**image original**).

4. Pour la verveine à la concentration 0.2 μ l/ml nous avons constaté une forte



Figure23 : HE *V.officinalis* à 0.2 μ l/ml (image original).



Figure24 : Hydrolat de *V.officinalis* (image original).

présence de *Penicillium* sp. presque le témoin. (Figure23)

5. En comparant l'efficacité de l'hydrolat par rapport à celle de l'HE ; l'hydrolat nous donne très faible présence de la moisissure, c'est à dire que l'hydrolat a vraiment a un effet fort sur le *Penicillium* sp. malgré que la verveine est fongistatique et pas fongicide. (figure24)

6. l'hydrolat de l'origan a un fort effet sur *Penicillium* sp. Nous avons observé l'absence de la moisissure dans l'échantillon. (figure25)



Figure 25 : Hydrolat de *O. vulgare*(image original).

l'HE de *O. vulgare* L. est plus efficace que celle de *V. officinallis* L., Ce qui est déjà prouvé par la méthode de croissance radiale dans la présente étude. L'origan est fongicide tandis que la verveine est fongistatique.

Les hydrolats des deux plantes ont un pouvoir conservateur important par rapport à celui des HEs ; Cela est peut être du à l'immiscibilité de ces dernières dans l'eau distillée , cependant nous devons trouver un moyen comestible pour diluer les HEs .

Des études similaires réalisées par **Belabbas et al. (2018)**, et **Tabti et al. (2014)** , ont montré que les HEs et les hydrolats de *Carthamus caeruleus* et de *Calendula arvensis*, ont une forte activité antifongique contre les pourritures des agrumes, des poires et des pommes causées par *Penicillium digitatum*, *P. expansum*.

Conclusion

CONCLUSION

Depuis longtemps les plants médicinales et aromatiques avaient une grande valeur dans plusieurs domaines dans la vie ; Les HEs extraites des plantes ont prouvé aussi une grande valeur, et ils ont plusieurs rôles et utilisations.

De nombreux scientifiques du monde entier ont mené des recherches pour l'utilisation des huiles essentielles dans de nombreux domaines, dont l'agriculture, l'environnement, la médecine et la pharmacie... ; la recherche continue à ce jour.

Mais, toujours avec l'utilisation des HEs on néglige l'hydrolat malgré le rendement d'hydrolat et très grand ; et dans ce mémoire on a fait une expérimentation pour savoir l'effet de l'hydrolat et les HEs de *Verbena officinalis* L. et *Origanum vulgare* L. sur le champignon de l'olivier (*penicillium* sp).

Dans ce travail ; nous avons parlé des PMA en générale et des *Verbena officinalis* L. et *Origanum vulgare* L. avec plus de détail, on a aussi parlé des méthodes d'extraction des HEs et d'hydrolat . Par hydrodistillation, les rendements des HEs de l'origan est de 1.34% et de la verveine est de 0.11%.

Le but de notre étude c'est l'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles et d'hydrolat de deux plantes contre une moisissure des olives. Avec l'isolement de la moisissure de l'olivier que nous avons identifiée ; il s'agit de *penicillium* sp. Causant la détérioration post récolte des fruits.

D'une part l'HE de *Origanum vulgare* L. était plus efficace que celle de *Verbena officinalis* L., cependant l'évaluation de l'activité antifongique a montré que *Origanum vulgare* L. est fongicide tandis que est fongistatique.

D'autre part l'hydrolat des deux plantes étudiées ont ralenti voir stoppé la croissance de mycélium ; ça veut dire que l'hydrolat aussi a un effet antifongique bien qu'il contient peu de principe actif. Et y' a peu de travaux qui ont été consacré à le tester, il est toujours négligé.

Ces résultats préliminaires avec les plantes du Thym et de laurier peuvent s'avérer prometteurs dans l'élargissement de l'arsenal des plantes douées de propriétés antifongiques, toute fois ces résultats peuvent être approfondis en vue d'une meilleure exploitation dans le domaine de l'agroalimentaire et la conservation post récoltes et des produits de conserves.

Références bibliographiques

- ❖ **Arvy M P et Gallouin F. 2003.** Épices. aromates et condiments. Éditions Belin.141- 148p
- ❖ **Adebayo et al., 2010.** Antifungal activity of bacteriocins of lactic acid bacteria from some Nigerian fermented foods. *Research Journal of Microbiology*. 5(11). 1070-1082 P.
- ❖ **Azizeh et al., 2002.** Biological control of the Western flower thrips *Frankliniella occidentalis* in cucumber using the entomopathogenic fungus *Metarhiziumanisopliae*. *Phytoparasitica*.30 (1). 18-24p.
- ❖ **Balfour J H. 1860.** A Manual of Botany. 702p.
- ❖ **Belabbas R. 2018.** Recherche de nouveaux principes actifs présents dans cinq plantes de la famille des Astéracées .Thèse de doctorat en chimie université de Tlemcen.
- ❖ **Bencharif Abdellatif 2018** mémoire de master sur Analyse chimique et activité antifongique de l'huile essentielle de l'espèce *Origanum vulgare*.
- ❖ **Benjilali B. (2004)** – Extraction des plantes aromatiques et médicinales cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. Manuel pratique. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation. 17-59.
- ❖ **Bouhaddouda , 2016).** Evaluation of Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oil and Methanolic Extract of *Origanum vulgare* L. ssp. glandulosum (Desf.) Ietswaart from Algeria. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*.2016: 104-112.
- ❖ **Bruneton, J., (1993).** Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. Tec. & Doc. Lavoisier, 2ème édition, Paris. 915p.
- ❖ **Brenes et Roura 2010.**A Brenes A., Roura E., 2010. Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 158, 1-14.
- ❖ **Couderc, V., (2001).** Toxicité des huiles essentielles. Ecole nationale vétérinaire Toulouse, thèse.
- ❖ **Danielle, Huard., (1999).** Les huiles essentielles, l'aromathérapie. Canada : Quebec:195p
- ❖ **De Feo, et al (2002)** Potential allelochemicals from the essential oil of *Ruta graveolens*. *Phytochemistry* 61:573–81.
- ❖ **El Asbahani A, Miladi K, Badri W, Sala M, Addi EA, Casabianca H, et al.** Essential oils: from extraction to encapsulation. *Int J Pharm*. 2015;483(1-2):220–243
- ❖ **Faromb j, (2003).** Traditionnel médecine, pp155-157.
- ❖ **Farm Wife 2016.** Things to Do with Lemon Balm the Nerdy Farm 12 wife.
- ❖ **Fasty D., 2007.** Ma bible des huiles essentielles. Leduc Editions. P : 20.

- ❖ **Fabbri et al., 2009** Olive breeding in breeding plantation tree crops: Tropical species. Springer New York, 423-465
- ❖ **Fandohan P., et al., (2004)**. Effect of essential oils on the growth of *Fusarium verticillioides* and Fumonisin contamination in Corn. *J.Agric.Food Chem.*52 : 6824-6829 pp
- ❖ **Farnsworth et al (1986)**.
- ❖ **Fouché J. G, et al. (2000)**. Les Plantes Médicinales, de la plante au médicament. Observatoire du Monde des Plantes Sart-Tilman.
- ❖ **Caron J., Laverdiere.2003**. Tests d'efficacité de Roatshield contre *Pythium* de la tomate de serre du Québec. Rapport final de recherche, Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec, Québec, 44 p.
- ❖ **Guignard J.L ,1996**. Biochimie végétale. Ed.Masson, paris.
- ❖ **Harjunpää, V, et al (1996)**. Cello-Oligosaccharide Hydrolysis by Cellobiohydrolase II from *Trichoderma Reesei*: Association and Rate Constants Derived from an Analysis of Progress Curves. *European journal of biochemistry*, 240(3), 584-591.
- ❖ **Iserin ,2001**. Larousse des plantes médicinales: identification, préparation, soins. 2ème édition de VUEF, Hong Kong: 335.
- ❖ **Kanda M. 2003**. Diversité des cultures et utilisation des pesticides dans les périmètres maraichers de Lome (Togo). Mémoire DESS, Université d'AbomeyCalavi, Benin, 93 p.
- ❖ **Larousse, 2001 et 2017**. L'Encyclopédie des plantes médicinales.
- ❖ **Leroux P. et Credet A., 1978**.- Document sur l'étude de l'activité des fongicides. INRA. Versailles, France, 12 p
- ❖ **(LEPOIVRE et al., 2003)** Phytopathologie : bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte / sous la direction de Philippe Lepoivre.
- ❖ **Mahmodi yahia. (1990)**. La thérapeutique par les plantes les plus commun en Algérie palais de livre Brida. P 81.
- ❖ **Mailhebiau. P.1994**. La nouvelle aromathérapie: biochimie aromatique et influence psychosensorielle des odeurs. Lausanne. 635p.
- ❖ **Masango P.** Cleaner production of essential oils by steam distillation. *J Clean Prod.* 2005;13(8):833–839.
- ❖ **M.E.Lucchesi, 2005** Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des HEs, Thèse, La Reunion.

- ❖ **Mériem Boutamani, 2013** Etude de la variation du rendement et de la composition chimique du *Curcuma longa* et *Myristica fragrans* en fonction du temps et de la technique utilisée.
- ❖ **M. Romdhane, 1993** Extraction solide liquide sous ultrasons, INPT, thèse de doctorat
- ❖ **Ozbay et Newman, 2004.** Fusarium crown and root rot of tomato and control methods. *plantpathol.J.3*, p.9-18.
- ❖ **Rauha JP, et al (2000)** Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. *Int J Food Microbiol* 56:3–12
- ❖ **Richard H., 1992,** Epices et aromates. ed. technique & Documentation. lavoisier, paris ,339.
- ❖ **Shellie R, et al ; 2004** Quantitation of suspected allergens in fragrances (Part I): evaluation of comprehensive two-dimensional gas chromatography for quality control. *Flavour Fragr*
- ❖ **Tabti L., Dib M.A., Djabou N., Gaouar Benyelles N., Paolini J., Costa J., Muselli A. 2014.** Control of fungal pathogens of *Citrus sinensis* L. by essential oil and hydrosol of *Thymus capitatus* L. *Journal of applied botany and food quality.* 85 :279-285.
- ❖ **Vidal, 2010.** *Guide des plantes qui soignent.*
- ❖ **Wan PJ et al, 1995.** Alternative hydrocarbon solvents for cottonseed extraction. *J Am Oil Chem Soc.* 1995;72(6):653– 659.
- ❖ (Septembre 2013/ Laboratoire BIO67-BIOSPHERE
/ https://www.bio67.fr/sites/default/files/fiche_33-_cmi.pdf).
- ❖ <https://www.femmeactuelle.fr>.
- ❖ <http://om.ciheam.org/om/pdf/b73/00007156.pdf>.
- ❖ <https://3.bp.blogspot.com/tp8W8DwQAzA/WDdOjAO1ARI/AAAAAAAAAHI/FK6YvqOWjZMQpNyaq-UR3ccEqCNPzVwpACLcB/s1600/hydrodistillation.jpg>.
- ❖ <https://www.senteursduquercy.com/origanum-origan/521-origanum-vulgare-thym-des-bergers-the-sauvage.html>.
- ❖ <https://www.preservons-la-nature.fr/flore/taxon/812.html>.
- ❖ <https://jardinage.ooreka.fr/plante/voir/644/verveine-officinale>.

Résumé

Cette étude porte dans le cadre d'une valorisation des ressources naturelles, il nous a paru intéressant d'étudier l'efficacité « in vitro » des l'huiles essentielles et hydrolat de *origanum vulgare* L et *verbena officinalis* L sur moisissure de l'olivier.

L'extraction des HEs de ces espèces a été réalisée par la méthode de hydrodistillation qui se faite par appareil de cleverger. L'activité antifongique liée à l'inhibition de la croissance mycélienne.

L'analyse des résultats de l'activité antifongique des HEs des deux plantes aromatiques vis-à-vis pénicillium sp, montrent que rendement HE de *Origanum vulgare* L (1,34) supérieure par rapport le rendement de *Verbena officinalis* L qui est relativement faible à valeur de (0,11)

Mots clés : *Origanum vulgare* L., *Verbena officinalis* L., HEs, activité antifongique, *Penicillium*.

Abstract

This study relates within the framework of a valorization of the natural resources, it seemed to use interesting to study the effectiveness "in vitro" of the essential oils and hydrosol of *origanum vulgare* er *verbena officinalis* on mold of the olive tree.

The extraction of EOs from these species was carried out by the method of hydrodistillation which is done by Cleverger apparatus. Antifungal activity linked to inhibition of mycelial growth.

The analysis of the results of the antifungal activity of the HEs of the two aromatic plants against *Penicillium* sp, show that the HE yield of *Origanum vulgare* L (1.34) is higher compared to the yield of *Verbena officinalis* L which is relatively low at value of (0.11)

Key words: *Origanum vulgare* L., *Verbena officinalis* L., HEs, antifungal activity, *Penicillium*

ملخص

هذه الدراسة تدخل ضمن اطار تثمين الموارد الطبيعية، و قد بدا من المثير للاهتمام بالنسبة لنا دراسة الفعالية" في المختبر" للزيوت الاساسية و التقطير العشبي ل *Origanum vulgare* L و *Verbena officinalis* على عفن الزيتون.

استخلاص الزيوت الاساسية لهذه الانواع يتم عن طريق التقطير البخار بواسطة جهاز كلافينجر، نشاط مضاد للفطريات متعلق بتنشيط نشاط الفطريات.

أظهر تحليل النتائج النشاط المضاد للفطريات للنباتتين العطريتين ضد البنسليوم، ان محصول الزيوت الاساسية ل *Origanum vulgare* L (1,34) اعلى مقارنة بإنتاجية *Verbena officinalis* L و هي منخفضة نسبيا (0,11).

الكلمات المفتاحية : *Origanum vulgare* ، *Verbena officinalis* ، زيوت أساسية، نشاط مضاد للفطريات، بنسليوم .