

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى-جيجل

Université Mohammed-Seddik Benyahia-Jijel

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de l'Environnement

et des Sciences Agronomiques



كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم علوم المحيط و العلوم الفلاحية

### Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme : Master Académique

Filière : Sciences Agronomiques

Option : Phytopharmacie appliquée

## *Thème*

**Analyse chimique et activité antifongique de  
l'huile essentielle de l'espèce *Origanum  
vulgare***

Présenté par : - Bencharif Abdellatif

#### Membres de jury:

Président : M<sup>me</sup> SALEM S.

Examineur : M<sup>me</sup> CHEBAB S.

Encadreur: M<sup>me</sup> BENABDELKADER M.

Session : Juin 2018

Numéro d'ordre: .....

## **Dédicaces**

Je dédie ce mémoire,

A mes parents

A mes frères et mes sœurs

A mes camarades et mes amis

A ceux, qui sont chers à moi

# Remerciements

Avant tout, mes remerciements infinis sont adressés à Dieu le tout puissant et miséricordieux de m'avoir donné la force et le courage de mener ce travail à terme.

Je tiens à remercier mon encadreur Benabdelkader M (Docteur à l'Université de Jijel) à son aide.

Mes remerciements vont également aux membres de jury :Salem S et chabeb (Enseignantes à l'Université de Jijel) pour avoir accepté d'examiner et d'évaluer cette étude.

Je tiens à remercier mes parents et mon frère Houssem

Je voudrais également remercier mes collègues et les ingénieursdu laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie

Et Enfin, je remercie tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce projet qui compte tant pour moi.

Sommaire

<b>Liste des tableaux .....</b>	<b>i</b>
<b>Liste des figures .....</b>	<b>ii</b>
<b>Liste des abréviations .....</b>	<b>iii</b>

<b>Introduction .....</b>	<b>1</b>
---------------------------	----------

**1<sup>ère</sup> partie : Etude Bibliographique**

**Chapitre I : Généralités sur les plantes médicinales et les huiles essentielles**

I -1- Les plantes aromatiques et médicinales .....	3
I -1- 1- Définition des Plantes médicinales .....	3
I -1- 2- Intérêt de l'étude des plantes médicinales .....	3
I -1- 3- La famille des <i>Lamiaceae</i> .....	4
I -1- 4- Métabolites des plantes médicinales .....	4
I -1- 4-1- Les métabolites primaires .....	4
I -1- 4-2- Les métabolites secondaires .....	4
I -2- Les huiles essentielles .....	5
I -2-1- Définition .....	5
I -2-2- Localisation des huiles essentielles dans la plante .....	6
I -2-3- Biosynthèse des métabolites secondaires .....	6
I-2-4- Composition chimique des huiles essentielles .....	6
I-2-4-1- Les terpènes .....	7
I-2-4-2- Les composés aromatiques .....	7
I-2-4-3- Composés d'origine variée .....	7
I-2-4-4- Chémiotypes .....	8
I-2-5- Rôle et fonctions biologiques des huiles essentielles .....	8
I-2-6- Propriétés physiques .....	9
I-2-7- Procédés d'obtention .....	9
I-2-7-1- L'expression à froid .....	9
I-2-7-2- L'entraînement à la vapeur .....	9
I-2-7-3- Macération .....	10
I-2-7-4- Extraction par micro-onde .....	10
I-2-7-5- L'extraction au CO <sub>2</sub> supercritique .....	11
I-2-7-6- Enfleurage et extraction .....	11
I-2-7-7- Extraction aux solvants .....	11

I-2-8- Les facteurs influençant la composition des HEs .....	11
I-2-9- Activité biologiques des huiles essentielles .....	12
I-2-9-1- Activité antibactérienne .....	12
I-2-9-2- Activité Anti-oxydant .....	12
I-2-9-3- activité Antifongiques .....	12
I-2-9-4- Activité antivirale .....	12
I-2-10- La toxicité des huiles essentielles .....	13
I-2-11- conservation des huiles essentielles .....	13

## **Chapitre II : généralités sur *Origanum vulgare* (origan)**

II-1- Étymologie et dénomination .....	14
II-2- Systématique .....	14
II-3- Caractères végétatifs .....	15
II-4- Distribution géographique .....	15
II-5- Climat.....	16
II-6- Culture de l'origan .....	16
II-7- Propriétés Médicinales de l'origan .....	17
II-8- principaux composés chimiques de la plante d'origan .....	17
II-9- Activité biologique de L'huile essentielle d' <i>Origanum vulgare</i> .....	17
II-9-1- Activité antibactérienne .....	17
II-9-2- Activité antifongique .....	18
II-10- Cuisine .....	18

## **Chapitre III : Le champignon *Mucor sp***

III-1- Définition .....	19
III-2- Classification .....	19
III-3- Caractéristiques de la classe des <i>Zygomycètes</i> .....	19
III-4- Reproduction de <i>Mucor sp</i> .....	20
III-5- Conditions de croissance de <i>Mucor sp</i> .....	21
III-5-1- Eléments nutritifs .....	21
III-5-2- Source de carbone et d'énergie .....	21
III-5-3- Facteurs physicochimiques .....	21

## 2<sup>eme</sup> partie : Etude Expérimentale

### Chapitre I : Matériel et Méthodes

I-1- Matériel Végétal .....	22
I-1- 1- Récolte d' <i>Origanum vulgare</i> .....	22
I-1- 2- Extraction de l'huile essentielle d' <i>Origanum vulgare</i> .....	23
I-1- 3- Conservation .....	24
I-1- 4- Détermination du rendement d'extraction .....	24
I-1- 5- Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle d' <i>Origanum vulgare</i> .....	24
I-1- 6- Propriétés chimiques (analyses qualitatives et quantitatives) .....	25
I-2- Matériel fongique .....	26
I-2-1- L'isolement du champignon .....	26
I-2-2- La purification du champignon .....	26
I-2-3- Identification .....	26
I-2-3-1- Identification macroscopique .....	26
I-2-3-2- Identification microscopique .....	26
I-3- Activité antifongique .....	27
I-3-1- méthode suivie pour l'évaluation de l'effet antifongique de l'HE d' <i>O.vulgare</i> sur le champignon <i>Mucor sp</i> .....	27
I-3-2- Méthode de détermination de concentration minimale inhibitrice (CMI) .....	27

### Chapitre II : Résultats et Discussion

I-1- Matériel Végétal .....	28
II-1-1- Détermination du rendement d'extraction .....	28
II-1-2- Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle d' <i>Origanum vulgare</i> .....	28
II-1-3- Propriétés chimiques (analyses qualitatives et quantitatives) .....	29
II-2- Matériel fongique .....	30
II-2-1- Identification macroscopique de <i>Mucor sp</i> .....	30
II-2-2- Identification microscopique .....	31
II-3- L'activité antifongique .....	31
II-3-1- méthode suivie pour l'évaluation de l'effet antifongique de l'HE d' <i>O.vulgare</i> sur le champignon <i>Mucor sp</i> .....	31
II-3-2- Méthode de détermination de concentration minimale inhibitrice (CMI) .....	33

<b>Conclusion</b> .....	<b>35</b>
-------------------------	-----------

<b>Références Bibliographiques</b> .....	<b>36</b>
--	-----------

### Annexes

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01.</b> Dénominations collectifs donnés à l'espèce <i>Origanum vulgare</i> L. dans différentes langues officielles nationales et régionales .....	14
<b>Tableau 02.</b> Rendement d'extraction de l'huile essentielle d' <i>Origanum vulgare</i> .....	28
<b>Tableau 03.</b> Caractéristiques organoleptiques d'huile essentielle de l'espèce d' <i>Origanum vulgare</i> .....	29
<b>Tableau 04.</b> Les composés chimiques majoritaires de l'HE d' <i>Origanum vulgare</i> et leurs pourcentages .....	29

## Liste des figures

---

<b>Figure 01.</b> La plante d' <i>Origanum vulgare</i> .....	15
<b>Figure 02.</b> Surface de distribution du genre <i>Origanum</i> .....	16
<b>Figure 03.</b> <i>Mucor sp</i> .....	20
<b>Figure 04.</b> Multiplication végétative (en haut du schéma) et cycle monogénétique haplophasique du <i>Mucor sp</i> (en bas du schéma) .....	20
<b>Figure 05.</b> La situation géographique de la station de la récolte .....	22
<b>Figure 06.</b> Les feuilles fraîches d' <i>Origanum vulgare</i> .....	22
<b>Figure 07.</b> Appareil d'hydrodistillation de type Clevenger .....	23
<b>Figure 08.</b> Photo d'appareil de la chromatographie en phase gazeuse .....	25
<b>Figure 09.</b> Aspect de L'huile essentielle de l'espèce étudiée ( <i>OriganumVulgare</i> ) .....	28
<b>Figure 10.</b> Morphologie de la colonie de <i>Mucor sp</i> (photo originale .....	30
<b>Figure 11.</b> Microscopie du champignon <i>Mucor sp</i> : (1) Mycélium et les Spores immobiles;(2) Sporocystes et Sporocystophores ; (3) Rizoïde .....	31
<b>Figure 12.</b> L'activité de l'HE d' <i>O. vulgare</i> (zone d'inhibition) sur le champignon <i>Mucor sp</i> .....	32
<b>Figure 13.</b> La mesure des zones d'inhibition de l'activité antifongique .....	32
<b>Figure 14.</b> L'activité de différentes concentrations de l'HE d' <i>Origanum vulgare</i> sur le champignon <i>Mucor sp</i> .....	34
<b>Figure 15.</b> Les mesures des Zones d'inhibition du champignon <i>Mucor sp</i> sous l'effet des différentes concentrations de l'huile essentielle d' <i>Origanum vulgare</i> .....	34



## Liste des abréviations

---

- AFNOR : Association Française de Normalisation
- cm : centimètre
- CMI : concentration minimale inhibitrice
- CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse
- DL<sub>50</sub> : Dose Létal qui tue 50% de la population
- FAO : Organisation internationale des aliments et d'agriculture
- He : Hélium
- HE : Huile Essentielle
- HEs : Huiles Essentielles
- km<sup>2</sup> : kilomètre Carré
- min: Minute
- ml : millilitre
- nm : nanomètre
- NIST : National Institute of Standards and Technology
- OMS: Organisation Mondiale de la Santé
- PAM : Plantes Aromatiques et Médicinales
- PM : Plantes Médicinales
- R.t : Retention Time
- RHE : Rendement en Huile Essentielle
- sec : seconde
- SM : Spectromètre de Masse
- % : Pourcentage

### Introduction

Depuis la plus haute antiquité, les plantes ont fait partie de la vie quotidienne de l'homme, car elles s'en servent pour se nourrir, se soigner ..., Les propriétés odorantes et thérapeutiques des plantes étaient déjà connues par l'ancienne Egypte et en Chine (**Fellah et al., 2006**), 75 à 95% des populations rurales (particulièrement dans les pays en développement) font recours à la médecine traditionnelle faite en grande partie à base de plantes (**OMS, 2003**). Environ 20% des espèces végétales dans le monde possèdent des vertus thérapeutiques ou cosmétiques, parce qu'elles contiennent des molécules ou des principes actifs à différentes propriétés biologiques, qui trouvent leur application dans plusieurs domaines (agriculture, cosmétologie, pharmacie et médecine etc.). Parmi ces molécules ou ces constituants chimiques figurent les huiles essentielles (**Suffredini et al., 2004**). Les HEs restent attacher à leurs propriétés médicinales (anti-inflammatoires, antifongiques, bactéricides, insecticides et calmantes etc.). Les huiles essentielles sont particulièrement abondantes chez certaines familles (Lamiacées, Myrtacées...). En général elles se rencontrent dans tout le règne végétal (**Mann, 1987**).

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**).

L'application excessive des fongicides de synthèse a été averti suite à leur toxicité et de pollution résiduelle qui en découlent. De même, beaucoup de microorganismes pathogènes peuvent développer des résistances à ces fongicides (**Adebayo et al., 2010**).

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 antioxydants et 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**).

Ce travail a pour but de l'extraction et de l'analyse chimique puis l'activité biologique (antifongique) d'huile essentielle de l'espèce *Origanum vulgare* sur le champignon *Mucor sp.* Dans le cadre de cette étude, ce mémoire est composé de deux parties.

La première partie propose une mise au point bibliographique. Elle est divisée en trois chapitres. Le premier chapitre est consacré à l'étude des plantes médicinales et les huiles essentielles. Le second chapitre rassemble des données bibliographiques sur la plante utilisée (*Origanum vulgare*). Et le troisième chapitre est consacré à une étude bibliographique sur le champignon *Mucor sp.* Dans la seconde partie (pratique), on a décrit en détail le matériel végétal, puis l'extraction de l'huile essentielle, et enfin l'étude de son activité biologique. Les résultats obtenus sont ensuite considérablement discutés. Le m'inscrit est fini par une conclusion générale, les annexes et la liste des références bibliographiques.

**Chapitre I : Généralités sur les plantes médicinales et les huiles essentielles****I-1- Les plantes aromatiques et médicinales**

L'histoire des PAM est intimement liée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde (**Cock, 2011**). Dès son existence, l'homme a utilisé les plantes pour la nourriture et à d'autres fins. Que la plante soit comestible ou toxique, qu'elle serve à tuer l'ennemi ou à soigner la santé, l'homme a découvert par une suite d'échecs et de réussites, l'utilisation des plantes pour son mieux-être (**Bruneton, 1999**). Au cours des dernières années, plusieurs raisons ont mené au rétablissement de l'usage des plantes médicinales (coût inférieur aux médicaments de synthèse, résistance accrue des pathogènes...) (**Onyilagha et al., 2003**).

L'Algérie c'est le plus grand pays d'Afrique, couvre une surface de 2.381.741 km<sup>2</sup>, donnant lieu à une importante diversité biologique. Les plantes poussent en abondance dans les régions côtières, montagneuses et également sahariennes. Ces plantes constituent des remèdes naturels potentiels qui peuvent être utilisés en traitement curatif et préventif...etc. (**Dungey et al., 1988**).

**I-1-1- Définition des Plantes médicinales**

Ce sont toutes les plantes ou parties de plantes à usage médicinal dans des préparations galéniques (décoctions, infusions, etc.), comme l'écorce de bourdaine (**Sofowora, 2010**). D'après la X<sup>ème</sup> Edition de la Pharmacopée Française, les PM "sont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée Européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses" (**Iserin, 2001**). Ce sont des plantes qui contiennent des substances qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles ou pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques (**Sofowora, 2010**).

**I -1-2- Intérêt de l'étude des plantes médicinales**

La majorité des espèces végétales contiennent des substances qui peuvent agir, à un niveau ou un autre, sur l'organisme animal et humain. On les utilise encore bien en médecine classique qu'en phytothérapie (**Iserin, 2001**).

La phytothérapie, est un terme vient du grec : «therapiea» la thérapie et «phytos » la plante. La phytothérapie est l'utilisation de l'ensemble des éléments de la plante (des plantes) à des fins thérapeutiques. Il s'agit d'une des sciences médicales les plus anciennes, «remède de bonne femme ». Une citation de Galien dit : « la meilleure médecine, c'est la nature car elle guérit les trois quart de toutes les maladies ». Aujourd'hui, 60 % des spécialités

médicamenteuses employées en médecine courante sont issues, directement ou par hémisynthèse du règne végétal (**Grosmond, 2001**).

### **I-1-3- La famille des *Lamiaceae***

La famille des *Lamiacées* (*Lamiaceae* ou *Labiatae*) est une famille botanique très large. La majorité de ces espèces ont une grande importance, vu leurs valeurs économiques (**Duarte et Lopez, 2007**). Elle comporte environ 264 genres et 6990 espèces (**Gurchan, 2004**) d'herbes, parfois arbre ou arbustes, annuelles ou pluriannuelles, habituellement aromatiques à tiges quadrangulaires. Les feuilles opposées, rarement verticillées ou alternées, simples à pennées ou composées, sans stipules (**Lihs et Hedge, 1994**).

Les espèces de la famille des *Lamiacées* sont considérées comme étant les plus évoluées parmi toutes les plantes dicotylédones. Elles sont distribuées dans les différentes zones tempérées du monde entier, mais concentrées en grande partie dans la région Méditerranéenne. Cette famille inclut plusieurs espèces utilisées dans la cuisine, la phytothérapie et la cosmétologie notamment celles appartenant aux genres: *Salvia*, *Origanum*, *Lavandula*, *Mentha*, *Thymus*, *Rosmarinus* et *Stachys* (**Gurchan, 2004**).

### **I-1-4- Métabolites des plantes médicinales**

Les métabolites des plantes sont les molécules issues du métabolisme des végétaux. On distingue deux classes de métabolites : métabolites secondaires et métabolites primaires (**Hartmann, 2007**).

#### **I-1- 4-1- Les métabolites primaires**

Les métabolites primaires sont nécessaires à la survie de la cellule ou de l'organisme. Les lipides constituent aussi une source d'énergie présente dans les membranes cellulaires. Les glucides représentent une source d'énergie surtout au niveau des parois cellulaires (cellulose). Les amino-acides représentent une source primaire de construction des protéines (**Hartmann, 2007**).

#### **I-1-4-2- Les métabolites secondaires**

Ils ne sont pas toujours obligatoires à la survie de la plante. Ils sont nécessaires à sa défense contre les agressions extérieures, Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches, ils sont mis à profit aussi bien dans l'industrie alimentaire, cosmétique que pharmaceutique. Constituent un groupe de produits naturels qu'il convient d'explorer pour leurs propriétés antioxydants, anti microbiennes... (**Epifano et al., 2007**).

Toutes les parties de la plante pouvant contenir les métabolites secondaires, mais ils sont distribués inégalement selon leurs rôles. Parmi les principales familles de métabolites secondaires trouvées chez les plantes on distingue **(Bruneton, 1999)**:

-Les composés phénoliques, qui interviennent dans les interactions plante-plante (inhibition de la germination et de la croissance ...). Parmi ces composés, on citera les lignines, les polyphénols, les stilbènes, les flavonoïdes, les phénylpropanoïdes, les anthocyanes et les tannins **(Bruneton, 1999)**.

-Les huiles essentielles, ces essences sont très volatiles et non miscibles à l'eau. Ce sont des liquides concentrés et hydrophobes des composés aromatiques (odoriférants) volatils d'une plante, les composés phénoliques, les alcaloïdes, les terpénoïdes et stéroïdes sont les principaux groupes de métabolites secondaires rencontrés dans les plantes et qui possèdent généralement une activité antimicrobienne **(Epifano et al., 2007)**.

## **I-2- Les huiles essentielles**

Les huiles essentielles (HEs) ont, à toutes époques, occupé une place importante dans la vie quotidienne des hommes qui les utilisaient autant pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner. Beaucoup de travaux ont montré l'importance incontestable des huiles essentielles dans divers secteurs économiques, comme par exemple, l'industrie de la parfumerie et de la cosmétique, l'industrie alimentaire, l'industrie pharmaceutique et plus particulièrement, la branche de l'aromathérapie qui utilise leurs propriétés bactéricides et fongicides **(Bakkali et al., 2008)**.

### **I-2-1- Définition**

Les HEs sont des métabolites secondaires volatils sous une forme des mélanges naturels complexes, isolés par expression mécanique ou par hydro distillation **(Kalemba et Kunicka, 2003)**. Elles sont obtenues à partir de graines, de feuilles, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits **(Burt, 2004)**. De nouvelles techniques permettant d'augmenter le rendement de production, ont été développées, comme l'extraction au moyen de dioxyde de carbone liquide à basse température et sous haute pression ou l'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes **(Kimbaris et al., 2006)**.

### I-2-2- Localisation des huiles essentielles dans la plante

Les HEs peuvent être localisées dans tous les organes végétaux : fleurs (*Ferulago angulata*) ; le bouton floral (girofle) ou les bractées (ylang-ylang); les feuilles (*eucalyptus*, menthe) ; les organes souterrains (vétiver); les rhizomes (gingembre); les fruits (fenouil) ; les épicarpes des Citrus; les graines (noix de muscade) (**Akhlaghi, 2008**); le bois (*Santalum album*) (**Howes et al., 2004**), les écorces (*Cinnamomum verum*) (**Jhamet et al., 2005**). Les HEs sont produites dans des cellules glandulaires spécialisées recouvertes d'une cuticule. Elles sont alors stockées dans des cellules à huiles essentielles (*Lauraceae* ou *Zingiberaceae*), dans des poils sécréteurs (*Lamiaceae*), dans des poches sécrétrices (*Myrtaceae* ou *Rutaceae*) ou dans des canaux sécréteurs (*Apiaceae* ou *Asteraceae*) (**Bruneton, 1993**).

### I-2-3- Biosynthèse des métabolites secondaires

La cellule végétale est le siège de la biosynthèse des composés fondamentaux de la matière vivante. Elle est capable de coordonner les multiples réactions enzymatiques conduisant à la production des huiles essentielles. Certaines cellules prennent en charge ces biosynthèses et également le stockage des métabolites formés.

Il en résulte que les huiles essentielles, constituées des mélanges complexes de composés organiques, possèdent des structures et des fonctions chimiques très diverses (**Lahlou, 2004**). Ces constituants appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes (isopréniques, monoterpènes, les sesquiterpènes, les diterpènes et les triterpènes) d'une part, et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, d'autre part (**Bruneton, 1999**).

Les plantes aromatiques sont capables de synthétiser ces essences à partir des sucres fabriqués lors du processus de photosynthèse, notamment le glucose. Ce processus se retrouve chez toutes les plantes vertes : ces dernières contiennent de la chlorophylle qui permet de capter l'énergie solaire et de synthétiser de l'oxygène ainsi que des structures (**Lahlou, 2004**).

### I-2-4- Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges variables et complexes de différents composés chimiques, dissous l'un dans l'autre, formant des solutions homogènes. Les HEs pouvant contenir plus de 300 composés différents. Ces composés sont des molécules volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes (**Bakkali et al., 2008**).

La composition peut varier selon l'organe, les facteurs climatiques, la nature du sol, les pratiques culturales et le mode d'extraction. Les HEs sont un mélange de constituants qui appartiennent à trois catégories de composés: terpéniques, aromatiques et variés (**Guignard, 2000**).

#### **I-2-4-1- Les terpènes**

Le terme terpène rappelle la toute première extraction de ce type de composé dans l'essence de térébenthine. Dans le cas des huiles essentielles, seuls les terpènes les plus volatils, c'est à dire, ceux dont la masse moléculaire n'est pas élevée. Ils répondent dans la plupart de cas à la formule générale  $(C_5H_8)_n$ . Suivant les valeurs de n, on a les hémiterpènes (n=1), les monoterpènes (n=2), les sesquiterpènes (n=3), les triterpènes (n=6), les tétraterpènes (n=8) et les polyterpènes. Les constituants des huiles essentielles sont très variés, on y trouve en plus de terpènes, des hydrocarbures, des esters, des lactones, des aldéhydes, des alcools, des acides, des cétones, des phénols, des oxydes et autres (**Teisseire, 1991**).

#### **I-2-4-2- Les composés aromatiques**

Les composés aromatiques des huiles essentielles sont principalement des dérivés du phénylpropane C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> (**Bruneton, 1999**). Sont beaucoup moins fréquents dans les huiles essentielles que les monoterpènes et sesquiterpènes (**Couic et Lobstein, 2013**). Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthol, l'estragole et bien d'autres. Ils sont davantage fréquents dans les huiles essentielles d'Apiaceae (persil, anis, fenouil, etc.) et sont caractéristiques de celles de lavanille, de l'estragon, du basilic, du clou de girofle,.... (**Teisseire, 1991**). Les phénylpropanoïdes, ou composés phénoliques, sont biosynthétisés à partir des acides aminés aromatiques que sont la phénylalanine et la tyrosine. Ils sont généralement caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle fixé à un cycle phényle (**Guignard, 2000**).

#### **I-2-4-3- Composés d'origine variée**

Compte tenu de leur mode d'extraction, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînaibles lors de l'hydrodistillation. Ces produits peuvent être azotés ou soufrés (**Teisseire, 1991**).



#### I-2-4-4- Chémiotypes

La connaissance des chémiotypes d'une huile essentielle et leur comportement est fondamentale car elle permet d'envisager l'activité pharmacologique, de prévoir aussi la pharmacocinétique et la biodisponibilité (**Franchomme et Penoël, 1990**).

La composition chimique de l'huile essentielle de certaines plantes peut varier à l'intérieur d'une même espèce. En effet une même plante aromatique, botaniquement définie, synthétise une essence qui sera biochimiquement différente en fonction du biotope dans lequel elle se développera. Ces variétés chimiques sont communément appelées chémiotypes, types biogénétiques, races chimiques ou races biologiques. Parmi les nombreux constituants d'une huile essentielle, l'un domine généralement, on l'appelle composé majoritaire et ça sera lui qui définit le chémiotype de cette huile (exemple : Thymus à thymol, à géraniol, à carvacrol, à linalol) (**Cosentinoetal., 1999**).

Pour une même espèce botanique, la composition chimique de l'huile essentielle n'est pas constante. Par exemple, le basilic cultivé en pleine lumière à Madagascar à un taux de chavicol de 57% alors que la même plante cultivée à l'abri de la lumière en contient 74%. Cette variabilité peut être influencée également par la composition du sol et la position géographique (**Franchomme et Penoël, 1990**).

#### I-2-5- Rôle et 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 pourquoi la plante fabrique son essence. Mais ce qui est probable c'est que le rôle des huiles essentielles au niveau du matériel végétal est intimement lié à leur situation (**Richard, 1992**). Les spécialistes considèrent les huiles essentielles comme des sources de signaux chimiques permettant à la plante de contrôler ou réguler son environnement. Par exemple, ces huiles confèrent un rôle défensif contre les champignons et les microorganismes et attractif vis-à-vis des insectes pollinisateurs. Un feuillage renfermant une teneur élevée en essences végétales (Ex : laurier) le protège contre les herbivores. Le rôle des huiles essentielles au niveau des racines, des écorces et du bois confère à la plante un effet antiseptique vis-à-vis des parasites telluriques (**Richter, 1993**). Les métabolites secondaires peuvent être des moyens de signalisation et d'interaction entre les plantes et les animaux disséminateurs ou pollinisateurs (**Paige et Whitham, 1985**).

### **I-2-6- Propriétés physiques**

Liquide des huiles essentielles sont volatiles à température ambiante, ce qui les différencie des huiles « fixes ». Elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau. Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée. Solubles dans les solvants organiques usuels, elles sont liposolubles. Entraînables à la vapeur d'eau, elles sont très peu solubles dans l'eau (**Bruneton, 2009**).

### **I-2-7- Procédés d'obtention**

Il existe plusieurs méthodes pour extraire les HEs. Les principales sont basées sur l'entraînement à la vapeur, l'expression, la solubilité et la volatilité. Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, de l'usage de l'extrait et l'arôme du départ au cours de l'extraction. le rendement en l'huile et la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées (**Crespo et al., 1991**).

#### **I-2-7-1- L'expression à froid**

Il est assurément le plus simple mais aussi le plus limité. Il est réservé à l'extraction des composés volatils dans les péricarpes des hespéridés ou encore d'agrumes qui ont une très grande importance pour l'industrie des parfums et des cosmétiques, Ce procédé consiste à broyer les zestes frais, à l'aide de presses, pour détruire les poches afin d'en libérer l'essence. On sépare ensuite les composants solides (zestes, pulpe) de la solution liquide, puis on centrifuge cette dernière pour séparer l'essence de la phase aqueuse. Cette technique, purement mécanique, limite le phénomène d'oxydation car elle conserve les antioxydants naturels ( $\alpha$  et  $\delta$ -tocophérols) contenus dans l'essence. Le produit ainsi obtenu porte le nom d'essence car il n'a subi aucune modification chimique (**Teuscher et al., 2005**).

#### **I-2-7-2- L'entraînement à la vapeur**

La plupart des huiles essentielles sont obtenues par distillation et entraînement à la vapeur d'eau, trois variantes sont possibles selon la texture et la fragilité de la matière à traiter (**Boukhobza et Goetz, 2014**).

-Hydro distillation simple, la plante est mise en contact avec l'eau dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel. Le tout est ensuite porté à ébullition, les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité (**Boukhobza et Goetz, 2014**).

-Distillation à vapeur saturée, le matériel végétal n'est pas en contact avec l'eau. Il est placé sur une grille perforée au-dessus de la base de l'alambic. Les composés volatils entraînés par la vapeur d'eau vont pouvoir être séparés par décantation du distillat refroidi (**Lucchesi *et al.*, 2005**).

-Hydrodiffusion, consiste à faire passer un courant de vapeur d'eau à très faible pression à travers la masse végétale. La composition des produits obtenus est sensiblement différente sur le plan qualitatif de celle des produits obtenus par les méthodes précédentes (**Boukhobza et Goetz, 2014**).

Les méthodes d'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau sont basées sur le fait que la plupart des composés volatils contenus dans les végétaux sont entraînaables par la vapeur d'eau, du fait de leur point d'ébullition relativement bas et de leur caractère hydrophobe. Sous l'action de la vapeur d'eau introduite ou formée dans l'extracteur, l'essence se libère du tissu végétal et entraînée par la vapeur d'eau. Le mélange de vapeurs est condensé sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par décantation (**Bruneton, 1993**). Au cours de cette distillation, l'EV (Essence Végétale) subit en fonction de sa nature chimique diverses modifications (hydrolyse, oxydation, reconfiguration...) susceptibles de modifier la structure même des molécules la composant, ce qui justifie la différenciation entre le terme d'E et d'HE. Plusieurs centaines de kilogrammes de plante sont parfois nécessaires à l'obtention de quelques litres d'HE (**Lucchesi *et al.*, 2005**).

#### **I-2-7-3- Macération**

Mettre la plante à froid dans un liquide (eau, vin, alcool, huile). Le temps de macération dépend de la plante (rarement plus de 10 heures en général). La plante peut aussi être utilisée fraîche comme le clou de girofle ou en solution dans de l'alcool, mais éventuellement aussi dans du miel ou dans de la glycérine (**Boukhobza et Goetz, 2014**).

#### **I-2-7-4- Extraction par micro-onde**

La technique d'extraction par micro-onde a été développée au cours des dernières décennies pour des fins analytiques. Le procédé d'extraction est basé sur l'absorption de l'énergie de la micro-onde par les composantes du matériel végétal et qui sont mesurées par une constante diélectrique. Cette absorption dépend aussi de la fréquence de l'onde et de la température du matériel végétal (**Moura *et al.*, 2005**).

**I-2-7-5- L'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique**

Technique très moderne et très coûteuse qui consiste à faire passer un courant de CO<sub>2</sub> à haute pression qui fait éclater les poches à essence et entraîne les substances aromatiques (Pellerin, 1991; Lagunez, 2006).

**I-2-7-6- Enfleurage et extraction**

L'enfleurage est une ancienne méthode utilisée pour l'extraction des plantes aromatiques destinées surtout à la parfumerie. Le principe consiste à placer les fleurs odorantes dans la graisse, afin de laisser les arômes y pénétrer. Une fois saturée, celle-ci est ensuite lavée à l'alcool pour extraire les composés odorants. L'alcool obtenu est ensuite évaporé pour donner l'absolue. Cette méthode est peu utilisée de nos jours à cause de l'utilisation de la graisse animale et du coût de production élevé. Elle a été remplacée par l'extraction aux solvants (Dugo et Di Giacomo, 2002).

**I-2-7-7- Extraction aux solvants**

L'extraction par les solvants est coûteuse à cause du prix de l'équipement et de la grande consommation des solvants. La méthode de cette extraction est basée sur le fait que les essences aromatiques sont solubles dans la plupart des solvants organiques. L'extraction se fait dans des extracteurs de construction variée, en continu, semi-continu ou en discontinu. 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. Un autre désavantage de cette extraction par les solvants est leur manque de sélectivité; de ce fait, de nombreuses substances lipophiles (huiles fixes, phospholipides, caroténoïdes, cires, coumarines, etc.) peuvent se retrouver dans le mélange pâteux et imposer une purification ultérieure (Brian, 1995).

**I-2-8- Les facteurs influençant la composition des HEs**

La composition des HEs d'une espèce donnée dépend de plusieurs facteurs d'origine intrinsèques (spécifiques de l'équipement génétique de la plante) et extrinsèques (liées aux conditions environnementales de la plante). Ces facteurs peuvent influencer à la fois et la quantité et la qualité des huiles produites. Le temps de récolte, l'humidité relative, la photopériode, la méthode d'extraction, la position de l'organe sur la plante (son emplacement), les techniques culture des plantes aromatiques si elles sont cultivées, la structure du sol et le climat font partie de ces facteurs (Panizzi *et al.*, 1993).

### I-2-9- Activité biologiques des huiles essentielles

#### I-2-9-1- Activité antibactérienne

A la manière des agents chimiques, on distingue deux sortes d'effets des huiles essentielles sur les microorganismes une activité létale (bactéricide) et une inhibition de la croissance (bactériostase) (**Kunleetal., 2003**).

#### I-2-9-2- Activité Anti-oxydant

L'activité antioxydant des huiles essentielles est attribuée à certains alcools, éthers, cétones et aldéhydes mono terpéniques tels que le linalool, le 1,8-cinéole, le géraniol, le linal, le citronellal, l'isomenthone, la menthone et quelques mono terpènes comme l' $\alpha$ -terpinène et le  $\beta$ -terpinène (**Edris, 2003**).

#### I-2-9-3- activité Antifongiques

Les infections fongiques ont augmenté durant ces dernières années en raison du nombre croissant de patients à haut risque, particulièrement les hôtes immunodéprimés (personne avec système immunitaire déficient). L'augmentation de la résistance fongique vis-à-vis les médicaments classiques, les frais de traitement et le fait que les antifongiques les plus disponibles n'ont que l'activité fongistatique, justifient la recherche de nouvelles stratégies (**Rapp, 2004**). Les huiles essentielles de nombreuses plantes sont reconnues qu'elles possèdent une activité antifongique (**Kalembe et Kunicka, 2003**).

Les huiles essentielles de Cannelle, de Clou de girofle ou de Niaouli sont des antifongiques, Insecticides (Certaines huiles essentielles sont insectifuges ou insecticides comme celles possédant des fonctions aldéhydes comme le citronellal contenu dans l'*Eucalyptus* citronné ou la citronnelle) (**Dung et al ., 2008**).

#### I-2-9-4- Activité antivirale

Les huiles essentielles des différentes familles botaniques présentent des actions antivirales, mais le degré d'efficacité varie selon la souche et la structure virale. C'est en raison de structures moléculaires particulières trouvés dans chaque type viral, que les huiles essentielles pénètrent dans les entités à des degrés divers (**Davidson et al., 2005**).

Les recherches ont découvert qu'un certain nombre d'huiles essentielles ont une activité antivirale contre certaines souches virales de la grippe, les adénovirus, les souches de la fièvre glandulaire, de l'entérite virale, de l'entérocolite virale et le VIH-1 (**Schnitzler et al., 2001**).

### I-2-10- La toxicité des huiles essentielles

Les HEs sont des molécules actives. Elles peuvent avoir de graves effets secondaires. Il est important de respecter la posologie et la durée de la prise. Parmi ces effets, citons : des allergisants ou hyper sensibilisants, photo sensibilisants dus aux fur coumarines, neurotoxiques dus aux cétones, néphrotoxiques dus aux terpènes majoritaires dans l'huile essentielle de Térébenthine et des rameaux de Genévrier, hépatotoxiques dus aux phénols pris pendant des laps de temps trop importants ou à doses massives. L'eugénol, qui est l'un des constituants du Thym, est hépatotoxique. Chez l'enfant, 10 ml eugénol peut conduire à une insuffisance rénale. Il a été démontré que le linalol, l'un des constituants d'une autre espèce de thym, est cytotoxique pour les cellules de la peau humaine (**Eisenhut, 2007**).

En règle générale, les huiles essentielles ont une toxicité aiguë par voie orale faible ou très faible : la majorité des huiles qui sont couramment utilisées ont une dose létale (DL50) comprise entre 2 et 5 g/kg (Anis, Eucalyptus, Girofle...etc.) ou, ce qui est le plus fréquent, supérieure à 5 g/kg (Camomille, Lavande...etc.). D'autres, une quinzaine, ont une DL50 comprise entre 1 et 2 g/kg: Basilic, Estragon, Hysope (1,5ml/kg). Les plus toxiques sont les huiles essentielles de Boldo (0,13 g/kg; convulsions apparaissant dès 0,07 g/kg), de Chénopode (0,25 g/kg), de Thuya (0,83 g/kg), ainsi que l'essence de moutarde (0,34 g/kg) (**Bruneton, 1999**).

### I-2-11- conservation des huiles essentielles

A cause de leur évaporation rapide, leur sensibilité à l'air et à la lumière, les HEs doivent être conservées dans des flacons opaques et fermés hermétiquement (**Panizziet al, 1993**).

L'instabilité relative des molécules constitutives des huiles essentielles rend leur conservation délicate. Trois facteurs interviennent dans l'altération des huiles essentielles : La température, La lumière, L'oxygène. Donc obligation de stockage à basse température (entre 08°C et 25°C) et stocker dans l'obscurité et dans un récipient opaque, brun de préférence et aussi les flacons doivent être entièrement remplis et fermés de façon étanche, il est possible de recourir à l'adjonction d'antioxydants. La durée de conservation admise est de 02 à 05 ans (**Bruneton, 2009**).

## Chapitre II : généralités sur *Origanum vulgare* (origan)

### II-1- Étymologie et dénomination

Autres noms : Origan, origan commun, origan vulgaire, marjolaine sauvage, marjolaine bâtarde, marjolaine vivace, marjolaine d'Angleterre, thé rouge, pied de lit, joie des montagnes (Hans, 2007). Le terme « origan » est apparu dans la langue au XIII<sup>ème</sup> siècle. Il dérive du latin *origanum*, qui l'a lui-même emprunté au grec *origanon*, et signifie « aime la montagne », à cause de la prédilection de la plante pour les régions montagneuses de la Méditerranée (Dauzart *et al.*, 1971). Le terme « origan » vient du grec « *orosganos* » En décomposant étymologiquement, on trouve *oros*, la montagne, et *ganos*, éclat, aspect triant, d'où la signification « qui se plaît sur la montagne ». L'origan porte le nom botanique ou scientifique d'*Origanum vulgare* Linné (Dubois *et al.*, 2006).

**Tableau 01:** Dénominations collectifs donnés à l'espèce *Origanum vulgare* L. dans différentes langues officielles nationales et régionales d'après Arvy et Gallouin (2003)

<i>Origanum vulgare</i>	
Arabe	الزعر
anglais	Common marjoram, Oregano
Italien	Origano comune
Allemand	Dost, Wohlgemuthe, Origano

### II-2- Systématique

Selon Balfour (1860) L'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-3- Caractères végétatifs

C'est une plante vivace Figure (01) atteignant 80 cm de hauteur (**Hans, 2007**). L'origan est reconnaissable à son odeur et à sa saveur phénolate, et aussi identifiable grâce à ses petites fleurs rosées ou blanches. Elle possède une tige montée, rameuse, avec des feuilles ovales de couleur vert grisâtre et de 2 cm de longueur, pétiolées, au feuillage et aux fleurs odorantes quand on les froisse, épicée et chaude (**Teuscher et al., 2004**).



**Figure 01.** La plante d'*Origanum vulgare* (**Koukoulitsa et al., 2006**)

### II-4- Distribution géographique

L'origan est une plante herbacée pousse dans un terrain montagneux inaccessible de la région Sud-Méditerranéenne, mais on la trouve aussi en Asie centrale et Europe. Les espèces de genre *Origanum* définis par Ietswaart sont distribués principalement dans la région Méditerranéenne Figure (02), et plus de 81% situés exclusivement dans la région Est Méditerranéenne. Uniquement quatre espèces sont limitées à la région Ouest Méditerranéenne (**Kintzios, 2002**).





— Limite de distribution

**Figure 02.** Surface de distribution du genre *Origanum* (Figueredo, 2007)

## II-5- Climat

L'origan est une plante assez tolérante au froid et à la sécheresse, ce qui en fait une plante particulièrement résistante, supportant bien la gelée et assurant un rôle de protection des sols inclinés. Elle pousse librement à l'état sauvage sur les pentes des pays méditerranéens. Elle y est localisée en altitude, dans des sols moyens et aime les étés frais. C'est la raison pour laquelle on la retrouve jusqu'en moyenne montagne. Dans des conditions plus rudes, les parties aériennes de la plante sont détruites pendant l'hiver, mais la souche résiste et elle redémarre à partir des bourgeons de renouvellement. Dans les climats froids, l'origan est alors plus considéré comme une plante annuelle, car elle passe difficilement la période hivernale. Au contraire, dans les régions plus douces, l'origan conserve sa végétation durant l'hiver (Rameau *et al.*, 2009).

## II-6- Culture de l'origan

Il nécessite un sol léger et aéré. L'origan se multiplie par éclat de touffes (reproduction asexuée) au printemps ou éventuellement par graine (reproduction sexuée). Les plants doivent être espacés de 30 cm. Associé aux herbes de Provence, un sol chaud, calcaire, à l'abri du vent et ensoleillé permet de cultiver cette plante aromatique poussant à l'état sauvage. La récolte se fait en juillet à leur apparition. Les parties utilisées sont les fleurs, les

tiges et les feuilles. Les modes de dispersion des semences les plus fréquents sont : le vent, l'eau, la gravité, les animaux (mammifères, oiseaux, insectes, etc.) et l'homme (**Lemoine, 2001**).

## II-7- Propriétés Médicinales de l'origan

L'origan est une plante aromatique Méditerranéenne couramment utilisée pour renforcer les fonctions digestives, respiratoires et articulaires. Elle présente aussi diverses propriétés thérapeutiques : antiseptique, antibactérien (**Saeed et al., 2009**) et antifongique (**Vijaya, 2010**). En effet, l'huile essentielle d'origan possède des propriétés antibactériennes (**Ozkalp et al., 2010**), stimulantes, antiseptiques, il est utilisé pour soigner les affections respiratoires telles que la toux, l'angine, la bronchite et l'asthme. En application, il soulage les douleurs dentaires et articulaires (**Delaroque, 2001**). l'huile essentielle est Antifongique, antioxydant du fait de la richesse en composés phénoliques, thymol et carvacrol, inhibe la formation de peroxy-nitrites (**Prieto et al., 2007**).

## II-8- principaux composés chimiques de la plante d'origan

Phénols (60 à 70%) (Carvacrol, Thymol), Monoterpènes (25 à 30%) (Terpinène), Monoterpénols (5 à 10%) (Linalol), Tanins, Flavonoïdes : hétérosides de lutéoline, d'apigénine et de naringénine, Acides phénoliques et l'huile essentielle à Carvacrol majoritaire (**Bakkali et al., 2008**).

- **Le carvacrol et thymol**

Carvacrol, est un des composants majeurs de l'HE d'origan apparait avoir reçu le plus d'attention des chercheurs. Le thymol est structuralement très similaire au carvacrol, ayant le groupement hydroxyle à un emplacement différent sur l'anneau phénolique. Les deux molécules apparaissent rendre la membrane cytoplasmique perméable (**Lambert et al., 2001**). les études avec *Bacillus cereus* ont montré que le carvacrol réagit réciproquement avec la membrane cytoplasmique, où il se dissout dans les couches phospholipidiques et est supposé s'aligner entre les chaînes d'acide gras (**Carlile, 2001**).

## II-9- Activité biologique de L'huile essentielle d'*Origanum vulgare*

### II-9-1- Activité antibactérienne

Une étude a examiné le mécanisme d'action de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* avec ces deux de leur composants, le thymol et le carvacrol, sur des bactéries

*Escherchia coli* et *bacillussubtilis* ont été utilisé respectivement comme modèle de bactéries Gram(+) et gram(-). L'huile comme leur de composants a été capable d'introduire une lyse cellulaire.

### II-9-2- Activité antifongique

Dans le domaine phytosanitaire et agroalimentaire, les HEs ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire (**Lis-Balchin, 2002**). Ils concluent que les phénols (eugénol, chavicol 4-allyl-2-6- diméthoxyphénol) sont plus antifongiques et que les aldéhydes testés (cinnamique et hydro cinnamique). Ils présentent également des propriétés fongistatiques très marquées. Les groupements méthoxy, à l'inverse, ne semblent pas apporter à ce type de molécules une fongitoxité significative. Cette activité est estimée selon la durée d'inhibition de la croissance déterminée par simple observation macroscopique. L'activité antifongique décroît selon le type de fonction chimique : **Phénols>Alcools>Aldéhydes>Cétones>Ethers>Hydrocarbures**. Parmi les aldéhydes aliphatiques, le cinnamaldéhyde s'est révélé le plus actif. En ce qui concerne les composés phénoliques, l'activité antifongique augmente avec l'encombrement stérique de la molécule (p-n-propylphénol> thymol> isoeugénol> eugénol) (**Utree et al., 2002**). L'effet de l'HE comme un fongicide est ainsi plus important à pH 4 qu'à pH 6. Utilisé en quantité suffisante, le carvacrol peut donc inhiber la croissance et la production de toxines d'*Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus*. Les dérivés phénoliques pourraient également être impliqués dans la réduction de la respiration cellulaire, produisant alors une perte d'énergie cellulaire des levures. Les terpènes, qui sont quant à eux présents dans différentes proportions, semblent posséder un effet additif sur l'inhibition fongique (**Vale-Silva, 2011**).

### II-10- Cuisine

L'origan est très employé pour parfumer pâtes et pizzas, ainsi que toutes sortes de viandes et poissons. Ses propriétés aromatiques, apéritives, digestives, antispasmodiques, antiseptiques (**Hans, 2007**).

**Chapitre III : Le champignon *Mucor* sp****III-1- Définition**

Le *Mucor* sp est un genre fongique classé dans les Mucorales, l'ordre le plus important de la zygosporie, champignons qui formaient autrefois le Zygomycota (**Kringset *al.*, 2013**). La différenciation des espèces du genre *Mucor* sp se trouve au niveau des couleurs, l'aspect, la vitesse d'envahissement, etc. (**Morel, 2012**). Les mucorales sont des champignons universels très répandus, saprophytes du sol, où ils se nourrissent à partir des végétaux, céréales ou déchets, ils contaminent fréquemment les denrées alimentaires (**Chabasse *et al.*, 2002**).

**III-2- Classification**

Selon **Morel (2012)** le *Mucor* sp est classé dans:

- Règne des mycètes (fungi)
- Division des Amastigomycota
- Classe des Zygomycètes
- Ordre des Mucorales
- Famille des *Mucoraceae*
- Genre *Mucor* sp

**III-3- Caractéristiques de la classe des Zygomycètes**

Les champignons de ce groupe ont la particularité de croître rapidement. Ils possèdent des cellules non mobiles et des hyphes non septes. Les zygomycètes peuvent se reproduire sexuellement et asexuellement. La reproduction sexuée aboutit à la production de zygosporangies spores immobiles à parois épaisses. La reproduction asexuée aboutit quant à elle à des spores (chlamydoconidies, sporangiospores) contenues dans un sporangium issu de sporangiophores simples ou branchés. Le *Rhizopus stolonifer* est une espèce courante qui appartient à ce groupe (**Peter *et al.*, 2017**).

III-4- Reproduction de *Mucor sp*

Les *Mucor sp* Figure (03), se reproduisent de deux façons Figure (04) : une par voie sexuée et l'autre par voie asexuée. La reproduction asexuée s'effectue au moyen de spores immobiles formées généralement en grand nombre dans des sporocystes (sporangiospores), pourvus à l'intérieur d'une véhicule centrale ou columelle prolongeant le sporocystophore (sporangiophore). Tandis que la reproduction sexuée, homothallique ou hétérothallique, fait intervenir une fusion de deux gamétocystes (**Botton et al ., 1990**).

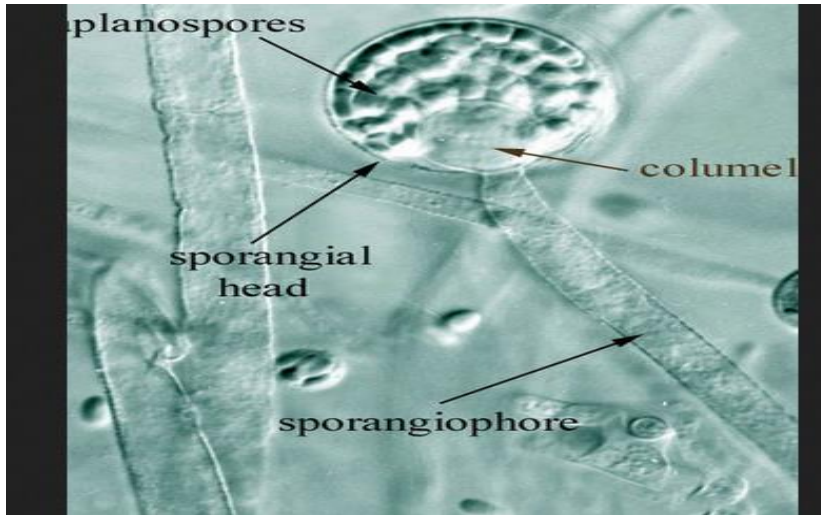


Figure 03. *Mucor sp* (Barron, 2013)

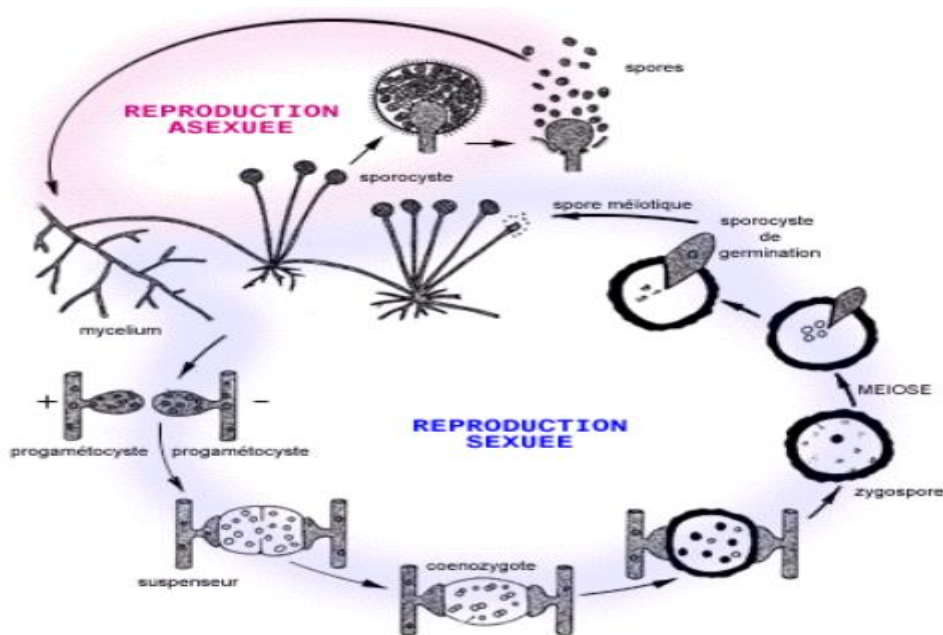


Figure 04. Multiplication végétative (en haut du schéma) et cycle monogénétique haplophasique du *Mucor sp* (en bas du schéma) d'après **Roland et Vian (1985)**

**III-5- Conditions de croissance de *Mucor* sp****III-5-1- Éléments nutritifs**

Ce sont des microorganismes hétérotrophes, elles exigent donc la présence des éléments nutritifs de base (carbone, azote et ions minéraux) dans le milieu qui assure leur croissance. Leur digestion doit commencer dans le milieu extérieur par des enzymes excrétées (extracellulaires) ou liées à la paroi, car seules les molécules de taille relativement petite peuvent franchir les parois et gagner le cytoplasme (**Davet, 1996**).

**III-5-2- Source de carbone et d'énergie**

Pratiquement tous les composés organiques peuvent être utilisés comme source de carbone et d'énergie par les *Mucor* sp. La plupart d'entre elles peuvent métaboliser le glucose et le saccharose avec quelques polysaccharides comme l'amidon et la cellulose (**Boiron, 1996 ; Nicklin et al., 2000**). Certaines d'entre elles produisent des lipases extracellulaires capables d'hydrolyser les lipides en glycérol et acides gras qui peuvent être assimilés par beaucoup d'espèces fongiques, alors que seulement certaines espèces utilisent les acides organiques et l'éthanol (**Boiron, 1996**).

**III-5-3- Facteurs physicochimiques**

Les facteurs physicochimiques ont une grande influence sur le développement des moisissures ainsi que sur la germination, nous examinerons les plus importants.

**a. Température**

La température joue un rôle prépondérant dans la croissance mycélienne (**Bourgeois, 1989**). La plupart des Mucorales sont mésophiles avec des optima de croissance de 25 à 35°C (**Botton et al., 1990**).

**b. Humidité**

Les *Mucor* sp ont en général un besoin en eau faible par rapport aux autres microorganismes (**Davet, 1996**).



2<sup>ème</sup> partie : Etude Expérimentale

## Chapitre I : Matériel et Méthodes

## I-1- Matériel Végétal

I-1-1- Récolte d'*Origanum vulgare*

La récolte des plantes de l'espèce d'*Origanum vulgare* a été réalisée dans la région Boudriaa Ben Yadjis – Jijel (Figure 05). Le prélèvement a été fait manuellement durant le mois du Mai 2018.



**Figure 05.** La situation géographique de la station de la récolte (Google Earth)

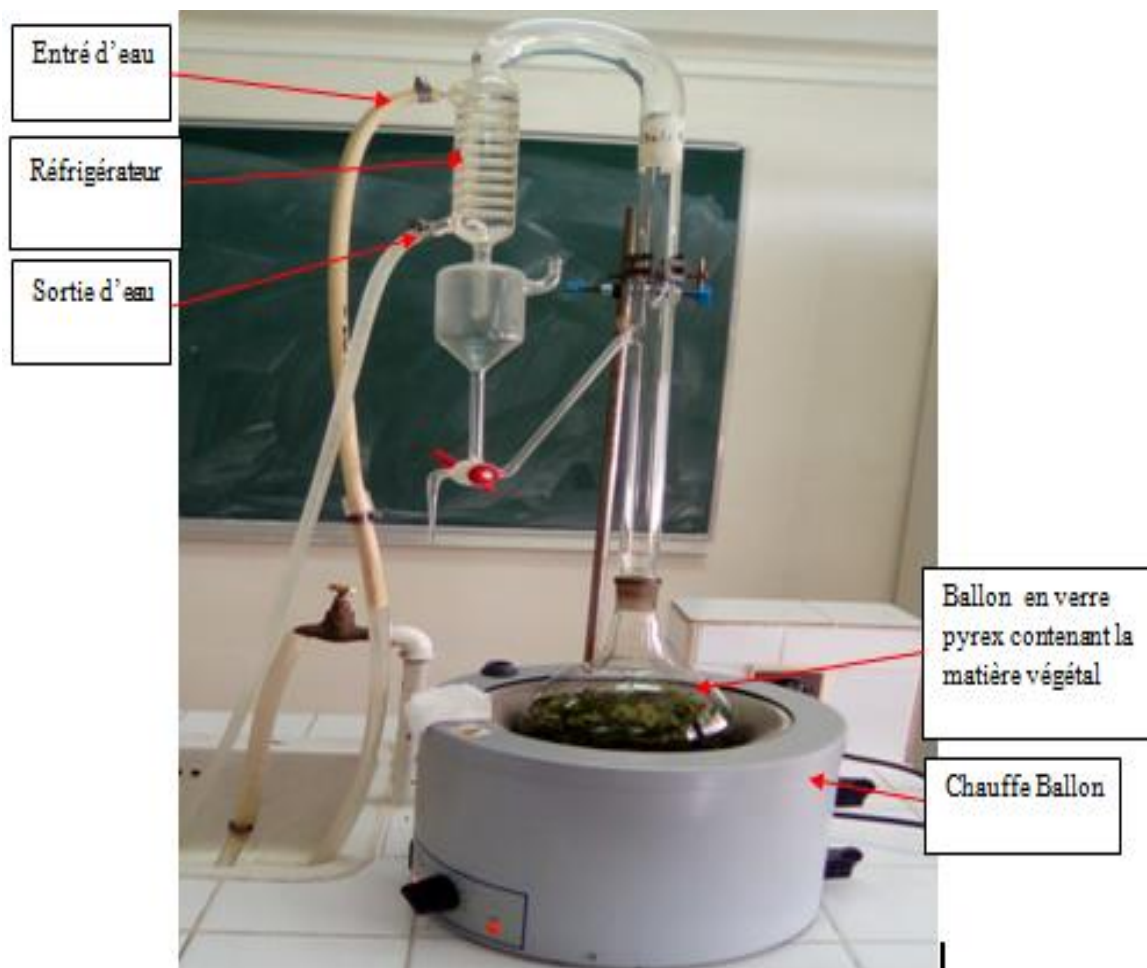
Les feuilles récoltées fraîches (Figure 06), ont été mises à l'abri de la lumière à une température ambiante pendant 5 jours avant de les mettre en extraction.



**Figure 06.** Les feuilles fraîches d'*Origanum vulgare*

**I-1-2- Extraction de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare***

L'huile essentielle des feuilles d'*Origanum vulgare* est extraite par le procédé d'hydrodistillation grâce à un appareil du type Clevenger (1928), qui est constitué d'un chauffe ballon et un ballon en verre pyrex où l'on place la matière végétale et l'eau distillée, et une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) (Figure 07).



**Figure 07.** Appareil d'hydrodistillation de type Clevenger (Laboratoire d'Université de Jijel)

La technique de l'hydro distillation est basée sur l'immersion d'un échantillon solide dans l'eau portée à ébullition. La vapeur saturée en huiles essentielles traverse un serpentin où elle se condense pour donner deux produits: l'eau florale et l'huile essentielle (**Bruneton, 2009**).

100 g de feuilles de la plante d'*Origanum vulgare* sont émiettées, puis introduites dans un ballon monocol de 2 L, ensuite ajouté une quantité suffisante d'eau distillée (1.5 L). Le mélange est porté en ébullition à l'aide de la chauffe ballon pendant 2 h. Les vapeurs



chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical, puis dans le lieu de condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans un collecteur. L'huile essentielle de faible densité par rapport à l'eau surnage à la surface de cette dernière. Après l'apparition de deux phases, l'une est organique (huile essentielle) et l'autre est aqueux (hydrolat) dans l'ampoule à décanter, L'huile ainsi obtenue est récupérée par décantation. Le distillat est recueilli dans le collecteur (flacon en verre) et l'huile essentielle des feuilles d'*Origanum vulgare* sera par la suite récupérée dans un tube approprié (Tung *et al.*, 2008).

### **I-1-3- Conservation**

On a conservé l'huile essentielle obtenue de l'espèce *Origanum vulgare* dans des tubes en verre stériles fermés hermétiquement, et couvrir avec un papier d'aluminium pour la préserver de la lumière, et les mettre à température 4°C dans un réfrigérateur.

### **I-1-4- Détermination du rendement d'extraction**

La norme **AFNOR (1986)**, est défini le rendement en huile essentielle (RHE), comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M). Il est donné par la formule suivante :

$$\text{RHE} = (M' / M) * 100$$

RHE: Rendement en huile essentielle exprimé en pourcentage (%)

M': Masse de l'huile essentielle obtenue en gramme (g)

M: Masse de la matière végétale utilisée en gramme (g) et qui vaut 100 g

### **I-1-5- Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare***

Les différentes caractéristiques organoleptiques (odeur, couleur, aspect) de l'HE d'*Origanum vulgare* ont été observées avec mon professeur et mes collègues.

**I-1-6- Propriétés chimiques (analyses qualitatives et quantitatives)**

L'analyse de la composition chimique des HEs est généralement effectuée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) (Figure 08).



**Figure 08.** Photo d'appareil de la chromatographie en phase gazeuse (Laboratoire d'Université de Jijel)

Ce couplage permet de déterminer simultanément le nombre de constituants de l'essence, leurs pourcentages respectifs, leurs ordres de sorties, ainsi que leurs masses moléculaires et leurs structures (à la limite de ce qui est disponible dans la bibliothèque de l'appareil) (**Bouchonnet, 2009**).

Le chromatographe en phase gazeuse est de marque CGMS Shimadzu QP 2010, couplé à un spectromètre de masse quadripôle de type EI mode 70 eV muni d'une colonne (OV1701 [25m]). La température de l'injecteur split est de 250 °C, celle de l'injecteur était programmée de 40 °C (10 min) à 220 °C, à raison de 5 °C/min et a été maintenue à 220 °C pendant 5 min. la ligne de transfert étant maintenue à 250 °C. Le débit du gaz vecteur (He) est de 2.0 ml/min. La vitesse linéaire moyenne est de 35 cm/sec. Les températures de la source et de l'interface sont fixées à 200 °C et 250 °C respectivement. Gamme de masse : 40 à 450 amu. Les constituants ont été identifiés par la bibliothèque NIST05 (National Institute of Standards and Technology).

Les indices de Kovats ont été déterminés par la banque de données informatisées ESO 2000. Cette étape est habituellement suffisante dans les cas d'analyse de routine d'HEs.

Les pourcentages relatifs(%) des composés identifiés dans la composition chimique des huiles essentielles ont été calculés à partir des aires de pics obtenus en chromatographie en phase gazeuse CPG/SM sans aucun facteur de correction.

**I-2- Matériel fongique****I-2-1- L'isolement du champignon**

L'isolement du champignon a été effectué à partir d'un fruit de courgette malade. La zone du symptôme a été coupée en petits fragments, ces derniers ont été désinfectés par l'eau de Javel, ensuite rincés et séchés avant l'ensemencement dans un milieu de culture Saboraud (Davet et Rouxel, 1997). L'incubation a été à température 25°C pendant 6 jours.

**I-2-2- La purification du champignon**

Avant d'entamer l'identification, on procède à la purification des souches isolées à l'aide d'une série de repiquage qui consiste à transférer aseptiquement un microorganisme dans un milieu neuf et stérile pour le maintenir en culture pure (Botton *et al.*, 1990). Cette opération a pour but de faciliter l'identification des champignons. Une fois que les colonies sont bien différenciées (Bourgeois et Leveau, 1980). Le repiquage des champignons se fait comme la suit :

Nous avons prélevé à l'aide d'une anse de platine stérile, au bord de la colonie, un fragment du mycélium et le déposer au centre de la nouvelle boîte de pétrie contenant le même milieu de culture L'incubation des cultures est effectuée en maintenant les mêmes conditions que précédemment

**I-2-3- Identification****I-2-3-1- Identification macroscopique**

Pour l'observation macroscopique du champignon isolé, il est nécessaire d'enregistrer l'aspect des colonies qui représente un critère clef d'identification, la couleur des colonies est un élément aussi très important pour d'identification (Botton *et al.*, 1990).

**I-2-3-2- Identification microscopique**

L'examen microscopique d'une colonie fongique se fait après réalisation d'un étalement entre lame et lamelle. L'observation du thalle, et des spores sont nécessaire à l'identification (Chabasse, 2002).

### I-3- Activité antifongique

#### I-3-1- méthode suivie pour l'évaluation de l'effet antifongique de l'HE d'*O.vulgare* sur le champignon *Mucor sp*

Des boîtes de Pétri contenant du milieu de culture Sabouraud, ont été perforées par deux trous dans leurs gélose, les cavités formées ont été remplies par 0.1 ml d'huile essentielle de l'espèce *Origanum vulgare*. L'ensemencement a été fait par un disque mycélien coupé d'une culture de champignon *Mucor sp*. Les boîtes sont mises en incubation à température 25°C pendant 3 jours. L'action inhibitrice s'est manifestée par la formation d'une auréole autour des puits. La lecture des résultats s'est effectuée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (Ela et al., 1996).

Pour la méthode de diffusion par disque en papier est identique à celle de diffusion par trous, seulement les trous ont été remplacés par des disques en papier de Watman N° 01.

Pour la méthode du contact direct, 0.1 ml d'HE d'*O. vulgare* a été incorporée avec le milieu de culture Sabouraud, ensuite un disque mycélien a été ensemencé dans le centre de la boîte de Pétri. Les boîtes sont incubées à température 25°C. La lecture des résultats s'est effectuée par la mesure des zones d'inhibition (Ela et al., 1996).

#### I-3-2- Méthode de détermination de concentration minimale inhibitrice (CMI)

Cette méthode permet la détermination de la CMI à partir d'une gamme de concentrations. Une série des dilutions de l'HE d'*O. vulgare* (75%, 50%, 25% et 12.5 %) a été réalisée. La méthode de diffusion par trous a été ensuite appliquée.

La CMI de l'extrait est définie à partir de la première boîte de la gamme dépourvue de croissance microbienne (NCCLS, 1999).

## Chapitre II : Résultats et Discussion

### II-1- Matériel Végétal

#### II-1-1- Détermination du rendement d'extraction

Le rendement de l'extraction de l'HE de d'*Origanum vulgare* a été calculé par rapport à la matière végétale fraîche, exprimé en grammes par 100 g. Le rendement est 0.23 % (Tableau 02).

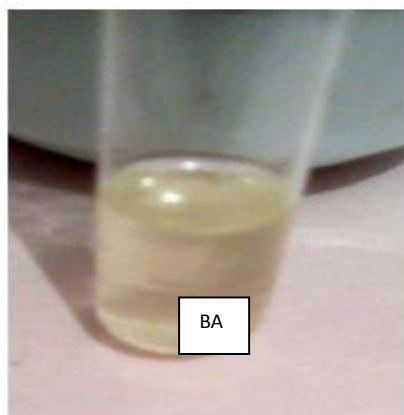
**Tableau 02.** Rendement d'extraction de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare*

Espèce	Rendement(%)
<i>Origanum vulgare</i>	0.23

On comparant nos résultats avec d'autres travaux, le rendement d'HE d'*Origanum vulgare* est approximatif à celle d'**Iteipmai (2009)**, qui a trouvé le rendement d'HE moyen de la partie aérienne fraîche entre 0,07 et 0,3 %, et de la partie aérienne sèche entre 0,5 et 5,0 %. Alors que **Amrouni et al. (2014)**, ont trouvé le rendement moyen 2,7%  $\pm 0,06$ . Cette différence est due aux diverses conditions telles que les facteurs écologiques, climatiques, l'origine géographique, le génotype, et d'autres facteurs (**Zygadlo et Juliani, 2003 ; Burt, 2004 ; Fellah, 2006**).

#### II-1-2- Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare*

Les paramètres organoleptiques de notre huile essentielle couleur, aspect, odeur ont été mentionné dans la Figure (09) et dans le Tableau (03)



**Figure09.** Aspect de L'huile essentielle de l'espèce étudiée (*Origanum vulgare*)(photo originale)

**Tableau 03.** Caractéristiques organoleptiques d'huile essentielle de l'espèce d'*Origanum vulgare*

Caractéristiques d'HE	couleur	aspect	odeur
<i>d'Origanum vulgare</i>	Jaune très claire	Liquide limpide	Aromatique

### II-1-3- Propriétés chimiques (analyses qualitatives et quantitatives)

L'analyse chromatographique par CPG/SM de l'HE d'*Origanum vulgare*, présentée par un chromatogramme (Annexe 01), a permis d'identifier une large gamme de composés chimiques.

Après traitement de données, on a résumé les principaux composants, dits majoritaires:  $\gamma$ -Terpinene nommée aussi 1,4-Cyclohexadiene,1-methyl-4-(1-methyl)- (46.85%), o-Cymene(11.57%),(+)-4-carene (6.91 %) et .beta.-Myrcene (4.42 %) (Tableau 04).

**Tableau 04.** Les composés chimiques majoritaires de l'HE d'*Origanum vulgare* et leurs pourcentages

Peak	R.t	Name	area%
12	9.606	$\gamma$ -Terpinene nommée aussi : 1,4-Cyclohexadiene,1-methyl-4-(1-methyl)-	46.85
13	8.787	o-Cymene	11.57
9	7.723	(+)-4-carene	6.91
7	6.882	.beta.-Myrcene	4.42
36	24.855	Carvophyllene	3.46
39	27.751	Phenol,2-methyl-5-(1-methylethyl)-	3.11
1	4.575	Origanene	2.83
41	29.685	Cyclohexane,1-methyl-4-(5-methyl-1-methylene-4-hexenyl)-,(S)-	2.82
18	13.957	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	1.72
2	4.694	1R-alpha-pinene	1.29
37	27.308	Thymol	1.22

R.t: Retention time (as minutes)

On comparant nos résultats de l'analyse CPG/SM avec d'autres travaux, Bouhaddouda *et al.* (2015), ont pu identifier 43 composés, les principaux constituants de

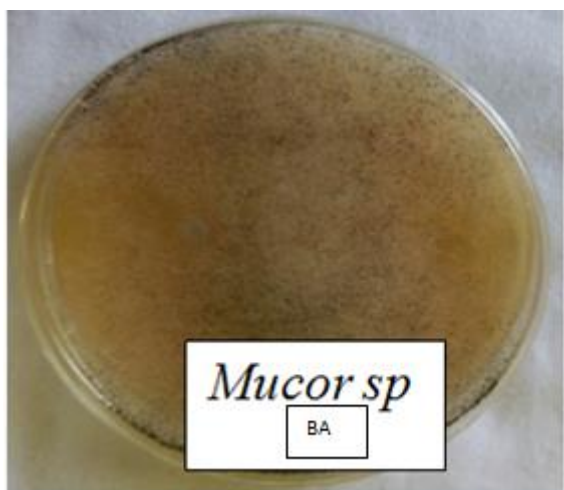
l'huile étaient le para-cymène (25.615%), le thymol (23.129 %), carvacrol (20.321%), Gamma-terpinène (16.612%) et l'alpha-terpinène (1.787%). Alors que **Amrouni *et al.* (2014)** ont rapporté une composition différente pour cette huile essentielle qui présentait 33.85% de carvacrol, 23.64% de thymol, 20.85% de para-cymène et 12.03% de  $\gamma$ -terpinene.

Les résultats de la CPG/MS ont montré que l'HE contient plusieurs composés des alcools, des lactones et des sesquiterpéniques ; ce qui nous conduit à penser que le principe actif serait probablement un ou plusieurs constituants qui sont contenus dans cette HE.

## II-2- Matériel fongique

### II-2-1- Identification macroscopique de *Mucor* sp

On a observé des colonies cotonneuses, de couleur blanche avant maturation et de couleur marron foncé après maturation due aux spores formées sur l'hyphes aériens (Figure 10).

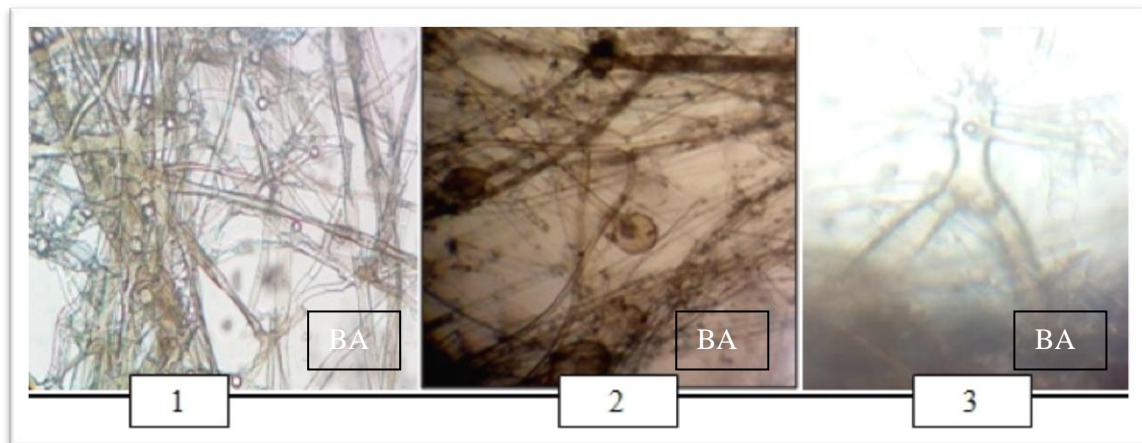


**Figure 10.** Morphologie de la colonie de *Mucor* sp(photo originale)

Cette description est identique à celle de (**Stajich *et al.*, 2009**) qui a trouvé la surface de la colonie cotonneuse, avec une couleur entre blanche beige à brune.

### II-2-2- Identification microscopique

Un mycélium siphonné (non cloisonné), de couleur blanche, des sporocystes sur des hyphes aériens, nommés sporocystophores, dont leur couleur est marron, et débutent à partir d'un rhizoïde Figure (11-1, 2,3).



**Figure 11.** Microscopie du champignon *Mucor sp* : (1) Mycélium et les Spores immobiles; (2) Sporocystes et Sporocystophores ; (3) Rizoïde (photos originales)

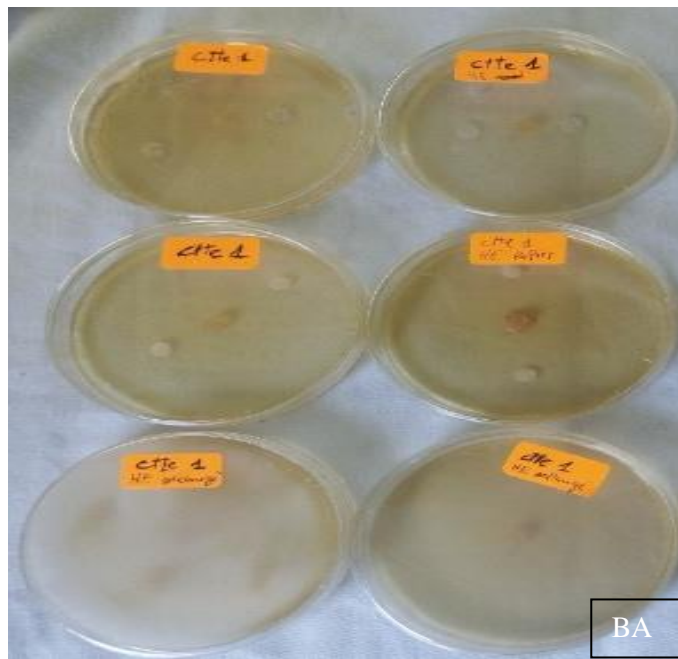
Ces caractères descriptifs appartenant au champignon *Mucor sp* selon **Botton et al. (1990)**, **Chabasse et al. (2002)**, **Stajich et al. (2009)**.

### II-3- L'activité antifongique

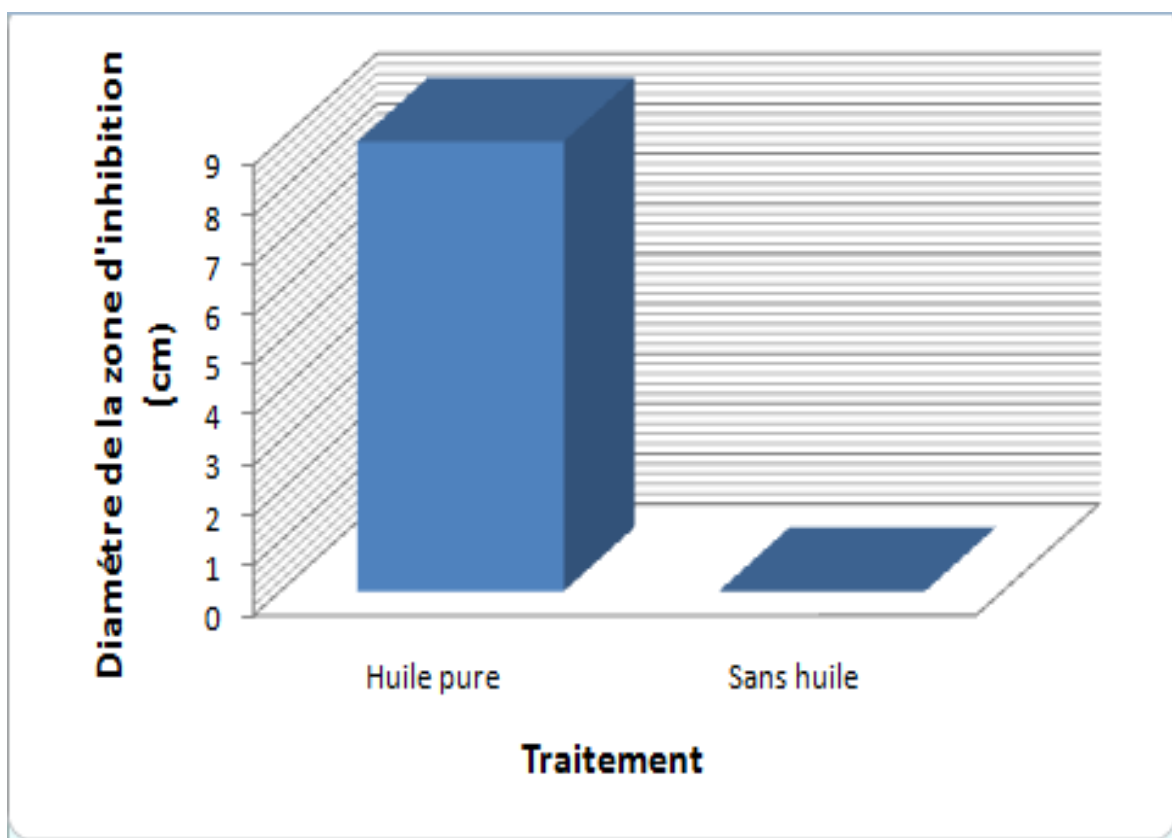
#### II-3-1- méthode suivie pour l'évaluation de l'effet antifongique de l'HE d'*O.vulgare* sur le champignon *Mucor sp*

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 pour les trois méthodes (Figure 12 et 13).





**Figure 12.** L'activité de l'HE d'*O. vulgare* (zone d'inhibition) sur le champignon *Mucor sp* (photo originale)



**Figure 13.** La mesure des zones d'inhibition de l'activité antifongique

Beaucoup de recherches indiquent que le pouvoir antifongique exprimé par l'huile essentielle peut être associé à son composant majoritaire (**Sharma et Tripathi, 2008**).

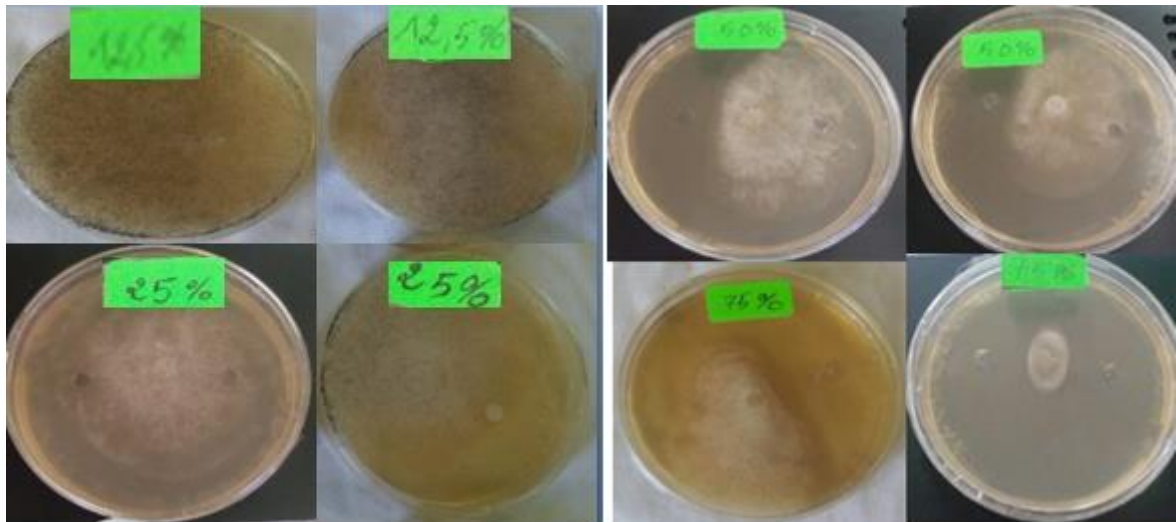
**Jing et al. (2014)** concluent que les huiles essentielles dont le thymol et  $\gamma$ -Terpinene constituent les composants majoritaires, sont efficaces dans l'inhibition de la croissance mycélienne, la production des spores et la réduction des mycotoxines.

Des études fondamentales ont montré que les aldéhydes et les cétones monoterpéniques (le thymol, linalool, l'eucalyptol, Camphre, carvacrol) avaient une activité antifongique et antibactérienne (**Bruneton, 2009**). Ce qui nous a conduit à penser que notre HE de l'*Origanum vulgare* a une activité antifongique parce qu'elle comprend le thymol, le  $\gamma$ -Terpinene, le o-Cymene et (+)-4-carene.

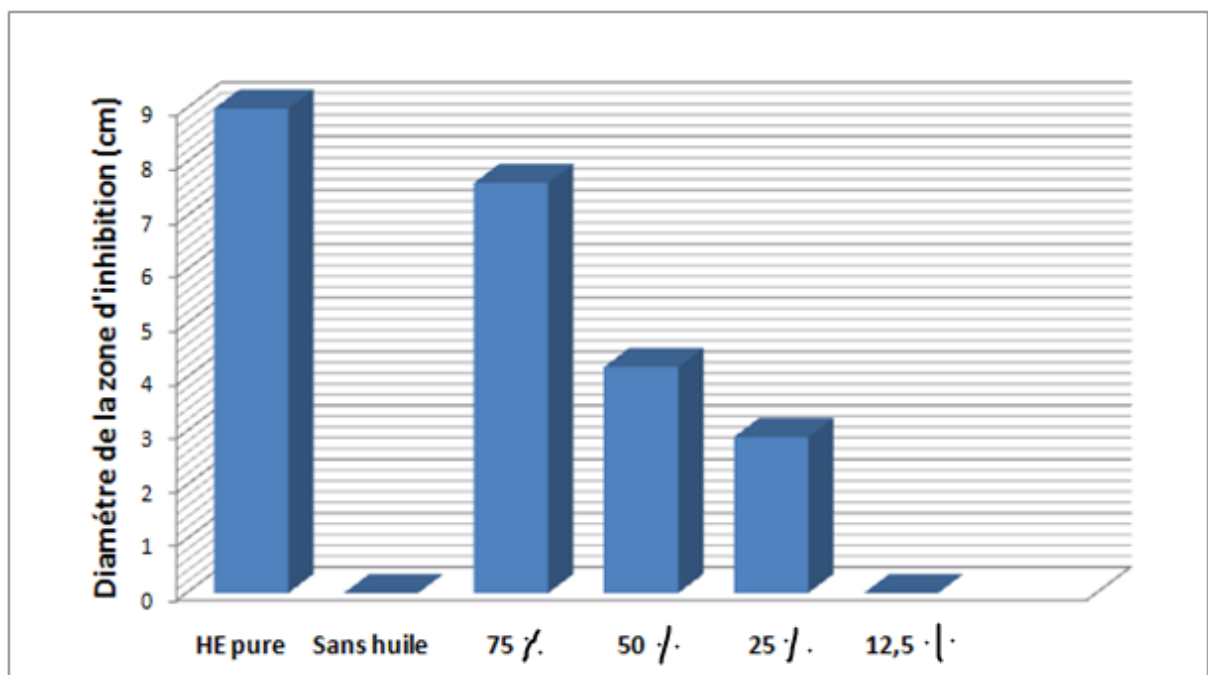
Le mécanisme d'action des huiles essentielles à l'égard des micro-organismes est complexe, il est admis que l'action antimicrobienne des HEs dépend de leur nature hydrophile ou lipophile (**kalemba et Kunicka, 2003**). Les HEs ont la capacité de pénétrer et perturber la paroi cellulaire fongique, perméabilise les membranes cytoplasmiques et enfin endommager les membranes mitochondriales (**Fisher et Phillips, 2008; Akhtar et al., 2014**).

### II-3-2- Méthode de détermination de concentration minimale inhibitrice (CMI)

On a remarqué à partir des résultats 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* (Figure 14 et 15) :  $7,625 \pm 0,75$  cm pour 75% ;  $4,2 \pm 0,85$  cm pour 50% ;  $2,9 \pm 0,53$  cm pour 25% ;  $0 \pm 0$  cm pour 12.5. Il y a des différences significatives entre les moyennes de diamètre de différentes concentrations dans les probabilités inférieure à 95 et 99% (Annexe 02). La concentration minimale d'inhibition (CMI) a été avec la dilution 25%.



**Figure 14.** L'activité de différentes concentrations de l'HE d'*Origanum vulgare* sur le champignon *Mucor sp*



**Figure 15.** Les mesures des Zones d'inhibition du champignon *Mucor sp* sous l'effet des différentes concentrations de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare*

L'augmentation du contenu en carvacrol et thymol de l'huile essentielle permet ainsi d'augmenter le potentiel antifongique de l'huile essentielle (Vale-Silva, 2011).

## Conclusion

Les extraits des huiles essentielles sont des substances naturelles, possèdent des propriétés antivirales, antibactériennes et antifongiques connues de longues dates. Le travail présenté a donc cherché à évaluer l'effet d'huile extraite de l'espèce d'*Origanum vulgare* sur la croissance mycélienne du champignon *Mucor sp*, responsable de la pourriture des fruits de courgette, cette effet est sous le nom d'activité antifongique.

L'huile essentielle a été extraite des feuilles d'*O.vulgare* par hydro distillation, en utilisant le montage de Clivenger, ensuite analysée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse pour déterminer sa composition chimique et évaluer son activité antifongique vis-à-vis le *Mucor sp*. Ce champignon a été isolé à partir d'un fruit de courgette infecté et identifié en se basant sur sa morphologie. L'activité de l'huile essentielle a été évaluée *in vitro* par trois méthodes : par contact direct, par diffusion en disques et par diffusion en puits. Par cette dernière méthode et par dilution d'huile essentielle la concentration minimale d'inhibition a été déterminée (CMI). Toutes activités d'HE sont évaluées par la mesure de diamètre de la zone d'inhibitrice.

Le résultat du rendement de l'extraction d'HE de l'espèce d'*O.vulgare* (0.23%) est acceptable en comparant à ceux trouvés par d'autres chercheurs. La croissance de *Mucor sp* a été inhibée par l'huile essentielle à des degrés variés selon les concentrations : en utilisant pure, c'était un vrai fongicide parce qu'il n'y avait pas de croissance ; utilisant dilué, c'est un fongistatique en diminuant la croissance du champignon et l'extension de zones d'inhibitrice, et le CMI est 25%. L'analyse par CPG- SM a montré de chimiotype  $\gamma$ -Terpinene, o-Cymene, et d'autres composants comme D-Lymonène, Thymol, Beta-phellanderene et Beta-myrcene, qui sont considérés comme des molécules actives envers les microorganismes selon une variété de recherches sur l'effet des HEs.

Ces résultats préliminaires sont intéressantes parce qu'ils ont montré l'efficacité de l'HE d'*O.vulgare* sur le champignon *Mucor sp*, c'est un produit bio naturelle qui probable qu'on peut l'utiliser comme alternative aux fongicides chimiques, son importance qu'il n'est pas néfaste à l'homme et l'environnement. La poursuite de ce genre de recherche contribuera à une meilleure compréhension des relations parasitaires.

### Références Bibliographiques

- **Adebayo C O., Aderiye B I. 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
- **AFNOR (Association Française de Normalisation). 1986.** Recueil des normes françaises “huiles essentielles”. AFNOR. Paris. 57p
- **Akhlaghi H. 2008.** The essential oils from flowers, stems and leaves of *Ferulago angulata* from Iran. *Chemistry of Natural Compounds*. 44. 396-397p
- **Akthar M S., Degaga B et Azam T. 2014.** Antimicrobial activity of essential oils extracted from medicinal plants against the pathogenic microorganisms: A review. *Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research*. 2(1). 001-007 p
- **Amrouni S., Touati M., Hadeif Y et Djahoudi A. 2014.** Effet de l’huile essentielle d’*Origanum vulgare* et de *Thymus ciliatus* sur *Pseudomonas aeruginosa* VIM-2 carbapénémase. *Phytothérapie*. 12(5). 309-313p
- **Arvy M P et Gallouin F. 2003.** Épices, aromates et condiments. Éditions Belin. 141-148p
- **Azaizeh H., Gindin G et Barash I. 2002.** Biological control of the Western flower thrips *Frankliniella occidentalis* in cucumber using the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Phytoparasitica*. 30(1). 18-24p
- **Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D et Idaomar M. 2008.** Biological effects of essential oils-a review. *Food and chemical toxicology*. 46(2). 446-475 P
- **Balfour J H. 1860.** A Manual of Botany. 702p
- **Barron George. 2013.** <https://atrium.lib.uoguelph.ca/xmlui/handle/10214/5483> [consulter le 18-06-2018]
- **Boiron P. 1996.** Organisation et biologie des champignons. Nathan. Paris. 19-79p
- **BOTTON B., BRETON A., FEVRE M., GANTHIER S., GUX PH., LARPÈNT J.P., REYMOND P., SANGLIER J.J., VAYSSIER Y. et VEAU P., 1990-** Moisissures utiles et nuisibles importances industrielles. 2 Ed. 3 Ed. Milan Barcelone Mexico. Paris. 120p

- **Botton B., Breton A., Fèvre M., Gauthier S., Guy Ph., Larpent JP., Reymond P., Sanglier JJ., Vayssier Y et Veau, P. 1990.** Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. 2e éd. revue et complétée. Paris, Milan, Barcelone: Masson, 512p
- **Bouchonnet S. 2009.** La spectrométrie de masse en couplage avec la chromatographie en phase gazeuse. Tec & Doc. 194p
- **Bouhaddouda N., Aouadi S., Labiod R. 2015.** Evaluation of Chemical Composition and BiologicalActivities of Essential Oil and MethanolicExtract of *Origanumvulgare*L. ssp. *glandulosum* (Desf.) IetswaartfromAlgeria. International Journal of PharmacognosyandPhytochemicalResearch. 8 (1). 104-112 P. ISSN: 0975-4873
- **Bouhdid S., Idaomar M., Zhiri A., Baudoux D., Skali N S etAbrini J. 2006.** Thymus essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. Congréstnternational de biochimie.Biochimie. Substances Naturelles et Environnement. Agadir. 324-327p
- **Boukhobza Florine et Goetz Paul. 2014.** Phytothérapie en odontologie - Editions CdP. ISBN 978-2-84361-244-2
- **Bourgeois C M., Mescle J F., Zucca J. 1989.** Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Lavoisier. Paris. 216-244p
- **Bourgeois, C. M., et Leveau, J. Y. (1980).** Le contrôle micro biologique. *Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires*, 3. 3 p
- **Brian M L.1995.** The isolation of aromaticmaterialsfrom plant products, R.J. Reynolds Tobacco Company, Winston- Salem (USA). 57-148 p
- **Bruneton J. 1993.** Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales. 2<sup>ième</sup> éd. Tec. et Doc. journal Lavoisier. Paris. France. 914p
- **Bruneton J. 1999.** Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 3<sup>ème</sup> Ed Tec et Doc. Paris
- **Bruneton J. 2009.** Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales 4<sup>ème</sup> édition. Lavoisier. Paris. France. 1269p
- **Burt S. 2004.** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. International Journal of Food and Microbiology. 94(3).223-253p
- **Camurça-Vasconcelos A L F., Bevilaqua C M L., Morais S M., Maciel M V., Costa C T C., Macedo I T F et Vieira L S. 2007.** Anthelmintic activity of Croton

- zehntneri and Lippiasidoides essential oils. VeterinaryParasitology. vol14. N°83-4 . 288-294 P
- **Carlile M J., Watkinson S C etGooday G W. 2001.** the fungi. 2<sup>ème</sup> édition. Académie press. London. 588 P
  - **Chabasse D. 2002.** Les moisissures d'intérêt médical. Cahier N°25 de formation de biologie médicale. 25-27 P
  - **Chabasse D., Bouchara J P., De Gentile L., Brun S., Cimon B et Penn P. 2002.** Les moisissures d'intérêt médical. Cahier de formation: biologie médicale Paris. 159p.
  - **Cock I E. 2011.** Medicinal And Aromatic Plant –Australia.Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS). Sydney: Australia. 25 p
  - **Cosentino S., Tuberoso C.I., Pisano B., Satta M., Mascia V., Arzedi E et Palmas F. 1999.** In vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils. Lett. Appl. Microbiol. 29 (2). 103-105 P
  - **Couic-marinier F et Lobstein A. 2013.** Composition chimique des huiles essentielles. Actualités pharmaceutiques. 52(525). 22-25 P
  - **Crespo M E., Jiménez J., Navarro C. 1991.** Special methods for the essential oils of the genus Thymus. In: Modern Methods of Plant Analysis, edited byH.F. Linskens and J.F. 41-61 p
  - **Dauzat A., Dubois J etMitterand H. 1971.** Nouveau dictionnaire étymologique et historique. N° 442.03 DAUn. Librairie Larousse, France. 805 p
  - **Davet P. 1996.** Vie microbienne du sol et production végétale. INRA. Paris. 52-57P
  - **Davet P et Rouxel F. 1997.** Detection et isolement des champignons du sol. INRA Edition. 23-132p
  - **Davidson P M., Sofos J N et Branen A L. 2005.** Antimicrobials in Food(éd. Third Edition). Boca Raton: CRC Press. 429 p
  - **Delaroque R. 2001.** Encyclopédie des plantes médicinales (Identification, préparation, soins). Larousse/veuf. Paris. 14-144p
  - **Duarte M. R., et Lopez J. F. 2007.** Stem and leaf anatomy of Plectranthus neo chilusSchltr.,Lamiaceae. Brazilian Journal of Pharmacognosy. 17(4). 549-556 P
  - **Dubois J., Mitterand H etDauzat A. 2006.** Dictionnaire étymologique et historique du français. Larousse.
  - **Dugo G et Di Giacomo A. 2002.** Citrus: The genus Citrus, Collection Medicinal & Aromatic Plants, Taylor & Francis Ltd, London, 656p



- **Dung N T., Kim J M., Kang S C., 2008.** Chemical composition. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and the ethanol extract of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr and Perry buds. *Food and Chemical Toxicology*, 46(12). 3632-3639p
- **Dungey S G., Sang Joseph P., Rothnie N E., Palmer Martin V., Burke Daniel G., Knox R B., Williams E G., Hilliard E P et Salisbury P A. 1988.** Glucosinolates in the pollen of rapeseed and Indian mustard. *Phytochemistry*. 27(3). 815-817 P
- **Edris A E., Shalaby A S., Fadel H M et Abdel-Wahab M A. 2003.** Evaluation of a chemotype of spearmint (*Mentha spicata* L.) grown in Siwa Oasis, Egypt. *European Food Research and Technology*. 218(1). 74-78 P
- **Eisenhut M. 2007.** The toxicity of essential oils. *Journal of Infectious Diseases*. 11(4). 365 p
- **Ela M A., El-Shaer N S et Ghanem N B. 1996.** Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and fixed oils. *Pharmazie*; 51. 993-995 p
- **Epifano F., Genovese S., Menghini L. et Curini M. 2007.** Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry*. 68. 939-953P
- **Fellah S., Abderraba M et Romdhane M. 2006.** Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis* L. cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie. *Journal-Société Algérienne De Chimie*. 16(2). 193-202 p
- **Figueredo G. 2007.** Étude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (*Lamiaceae*) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. Thèse. Clermont. Ferrand. France. 1-156p
- **Fisher K. et Phillips C. 2008.** Potential antimicrobial use of essential oils in foods: is citrus the answer? *Trends in Food Science and Technology*, 19(3). 156–164 p
- **Franchomme P et Penoel D. 1990.** Matière médicale aromatique fondamentale (317-406), livre quatrième, l'aromathérapie exactement, encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. R. Jollos Edit. Limoge. 446 p
- **Google Earth. [www.Googleearth.com](http://www.Googleearth.com)**
- **Grosmond G. 2001.** La phytothérapie Bulletin des GTV, HS : Elevage et agriculture biologique, Métabolites des plantes. 143-145 P
- **Guignard J. Louis. 2000.** «Biochimie végétale». Masson. Paris. 166p



- **Gurchan S. 2004.** Plants Systematics: an integrated approach. USA: Science Publisher INC, infield. NH (Printed in India). disponible online sur [<http://books.google.fr>]
- **Hans W K. 2007.** 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition. 223- 336 P. ISBN 978-2-35530-003-5
- **Hartmann T. 2007.** From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. Review. Phytochemistry 68. 2831–2846 p
- **Howes M J R., Simmonds M S J., Kite G C. 2004.** Evaluation of the quality of sandalwood essential oils by gas, chromatography-mass spectrometry. Journal of ChromatographyA, 1028. 307-312p
- **Ietswaart J H. 1980.** A taxonomic revision of the genus *Origanum* (Labiatae). The Hague: Leiden University Press. 4. 158p
- **Iserin P. 2001.** Encyclopédie des plantes médicinales, identification, préparation, soin. 2 ème édition, Ed. jour : La rousse/VUEF. 291-296 p
- **Iteipmai (Institut Techni Plant MedicAromInstitut ). 2009.** Origan: *Origanum vulgare* L. spp. 24-65p
- **Jham G N., Dhingra O D., Jardim C M., Valente V M M. 2005.** Identification of the Major Fungitoxic Component of Cinnamon Bark Oil. Fitopatol. Brasil, 30. 404-408p
- **Jing L., Lei Z., Li L., Xie R., Xi W., Guan Y., Sumner L W et Zhou Z. 2014.** Antifungal of citrus essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 62(14). 3011 -3033p
- **Kalemba D et Kunicka A. 2003.** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Current Medicinal Chemistry. 10(10). 813-829 p
- **Kimbaris A C., Siatis N G., Daferera D J., Tarantilis P A., Pappas C S et Polissiou M G. 2006.** Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*). Ultrasonics Sonochemistry. 13(1). 54-60 p
- **Kintzios S E. 2002.** Oregano: The genera *Origanum* and *Lippia* (Medicinal and Aromatic Plants –Industrial Profiles). Taylor et Francis. Infection de toxines de *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus*. 14-19p
- **Koukoulitsa C., Karioti A., Bergonzi M C., Pescitelli G., Di Bari L., et Skaltsa H. 2006.** Polar constituents from the aerial parts of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* growing wild in Greece. Journal of agricultural and food chemistry. 54(15). 5388-5392 p

- **Krings M., Taylor T N., Dotzler, N. 2013.** Fossil evidence of the zygomycetous fungi. *Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*. 30. 1p
- **Kunle O., Okogun J. et al. 2003.** "Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from *Lippia multiflora* extract" *Phytomedicine* 10.59-61p
- **Lagunez R L. 2006.** Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffée par induction thermomagnétique directe. Thèse de doctorat. Université de Toulouse. France. 335 P
- **Lahlou M. 2004.** Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy research*. 18(6). 435-448 P
- **Lambert R J W., Skandamis P N., Coote P et Nychas G J E. 2001.** A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of applied Microbiology*. 91. 453-462 P
- **Lemoine E. 2001.** Les plantes aromatiques et médicinales. Pub Éditions Molière
- **Lihs, W. et Hedge I. C. 1994.** LAMIACEAE. *Flora of China*. 17. 50–299 P
- **Lis-Balchin M. 2002.** Lavender: the genus *Lavandula*. Taylor and Francis. London. 257 p
- **Lucchesi M E., Chemat F., Smadja J. 2005.** Solvent-free microwave extraction of essential oils from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *J. Chromatogr A*. 1043(2). 323-327 P
- **Mann J. 1987.** Secondary metabolism. Second Edition. 390p. ISBN: 9780198555292
- **Morel Guillaume. 2012.** La levure *Geotrichum candidum*: taxonomie, biodiversité et génome Doctoral dissertation. Université Paris Sud-Paris XI
- **Moura L., Carvalho J R., Stefanini M B., Ming L et Meireles M. 2005.** Supercritical fluid extraction from fennel (*Foeniculum vulgare*): global yield, composition and kinetic data. *The Journal of Supercritical Fluids*. Article en presse
- **National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals, June 1999.** Approved Standard; NCCLS document M31-A, 1999
- **Nicklin J., Graeme-Cook K., Paget T. et Killington R. 2000.** L'essentiel en microbiologie. Berti. Paris. 210-216 P
- **OMS (Organisation mondiale de la Santé). 2003.** Genève, Suisse, Directives OMS sur les bonnes pratiques agricoles et les bonnes pratiques de récolte (BPAR) relatives aux plantes médicinales. 96 P

- **Onyilagha J., Bala A., Hallett R., Gruber M., Soroka J et Westcott N. 2003.** Leafflavonoids of the cruciferousspecies, *Camelinasativa*, *Crambe* spp., *Thlaspiarvense* and severalothergenera of the family Brassicaceae. *Biochemical Systematics and Ecology*. 31(11). 1309-1322 p
- **Ozkalp B., Sevgi F., OzcanM etOzcan M M. 2010.** The antibacterial activity of essential oil of oregano (*Origanumvulgare*L.). *J Food AgricEnviron*. 8(2).272-274 P
- **Paige K N etWhitham T G. 1985.** Individual and population shifts in flowercolor by scarletgila: a mechanism for pollinatortracking . *Science*. 227(4684). 315-317p
- **Panizzi J., Flamini G., Cioni P L., et Morelli I. 1993.** Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. *J. Ethnopharmacol.* (39). 167-170 P
- **Pellerin P. 1991.** Supercritical fluid extraction of natural raw materials for the flavour and perfume industry. *Perfum. Flavor*. 16(4). 37-39 p
- **Peter H Raven, Susan R Singer, Georges B Johnson, Kenneth A Mason, Jonathan B Losos. 2017.** *Biologie*. 4<sup>ème</sup> édition. 1280 p. ISBN 978-2-0615-8
- **Prieto J M., Iacopini P., Cioni P etChericoni S. 2007.** In vitro activity of the essential oils of *Origanumvulgare*, *Saturejamontana* and their main constituents in peroxynitrite-induced oxidative processes. *Food Chemistry*. 104(3). 889-895 P
- **Rameau J C., Mansion D., Dumé G et Gauberville C. 2009.** Flore forestière française. Tome 3: Région méditerranéenne. Institut pour le développement forestier
- **Rapp R. P. 2004.** Changing strategies for the management of invasive fungal infections. *Pharmacotherapy*. 24. 4S-28S P
- **Richard H. 1992.** Epices et aromates. Ed. dec et doc Lavoisier. collection science et techniques alimentaires. Paris. 339p
- **Richter G. 1993.** Métabolisme des végétaux. *Physiologie et Biochimie*. Pub Lausanne (Switzerland) Presses Polytechniques et Universitaires Romandes. 322-323 P
- **Roland J C. et Vian B. 1985.** Atlas de biologie. Ed Masson. <http://www.creaweb.fr/perso/bv/myco5.html> Consulter le 18 -06-2018
- **SaeedSabahat and Tariq Perween. 2009.** Antibacterial activity of oregano (*Origanumvulgare* Linn) against gram positive bacteria. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*. 22(4). 421-424p
- **Schnitzler P., Schon K etReichling J. 2001.** Antiviral activity of Australian tea tree oil and eucalyptus oil against herpes simplex virus in cell culture. *Pharmazie*. 56. 343–347 P

- **Sharma N et Tripathi A. 2008** .Effects of Citrus sinensis(L) Obseckepecarp essential oil one growth and morphogenesis of Aspergillus Niger (L) Van Tieghem . MicrobiologicalResearch, 163( 3). 337-344p
- **SofoworaAbayomi. 2010.** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Karthala Editions. 1-270 p
- **Stajich J E., Berbee M L., Blackwell M., Hibbett D S., James T Y., Spatafora J W et Taylor J W. 2009.** Primer--The Fungi. Currentbiology: CB. 19(18). R840 P
- 
- **Suffredini J B., Goncalves A G., Sader H S., Gales A C., Reis A O., Varella A D., et al. 2004.** Screening of antimicrobialextractsfrom plants native to the Brazilian Amazon rainforest and Atlantic forest. Brazil. J.Med. Biol. Res.37. 379-384p
- **Teisseire P J. 1991.** Chimie des substances odorantes,Technique et documentation-Lavoisier,Paris, France. 480 p
- **Teuscher E., Anton R et Lobstein A. 2005.** Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec & Doc
- **Teuscher E., Anton R., Lobstein A. 2004.** Plantes aromatiques: Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Éditions Tec&Doc
- **Tung Y T., Chua M T., Wang S Y et Chang S T. 2008.** Anti-inflammation activities of essential oil and itsconstituentsfromindigenousscinnamon (Cinnamomummosmophloeum) twigs. Bioresourcetechnology. 99(9). 3908-3913p
- **Utree A., Slump R A, Steging G. et Smid E J., 2002.** Antimicrobial activity of carvacrol on rice. Journal of food protection.63. 620-624 p
- **Vale-Silva L., Silva M J., Oliveira D., Gonçalves MJ., Cavaleiro C., Salgueiro L., Pinto E. 2011.** Correlation of the chemical composition of essential oils from Origanumvulgaresubsp. Virens with their in vitro activity against pathogenic yeasts and filamentous fungi –Journal of Medical Microbiology 61 (2012). 252-260p
- **Vijaya M., Cass I., Judy G., Nadeem A T., Bobby W E., Debasis B., Hrry G P. 2010.** Antifungal activities of origanum oil against Candida albicans. Molecular and cellular biochemistry. 228(1-2). 111-117 p
- **Zygadlo J A ET Juliani H R. 2003.** Recentprogress in medicinal plants. In: Majundar D.K., Govil J.N., Singh V.K., Shailaja M.S. etGangal S.V. Phytochemistry and Pharmacology II. StudiumPress. Houston. Texas. 8. 273-281 p

## Annexe 02

Tableau de comparaison entre les différences de deux moyennes et la différence minimale significative (LSD)

$LSD_{0,05-16}=0,814849475$  ,  $LSD_{0,01-16}=1,122722267$

Symbole	a	b	c	d	e
[%]	Huile pure	75	50	25	12.5
moyennes de diamètres (cm)	9	7,625	4,2	2,9	0
		1,375**	4,8**	6,1**	9**
			3,425**	4,725**	7,625**
				1,3**	4,2**
					2,9**

Président : SALEM S  
Examineur : CHEBAB S  
Encadreur : BENABDELKADER M

Présenté par : Bencharif Abdellatif

Session Juin 2018

### Thème

Analyse chimique et activité antifongique de l'huile essentielle de l'espèce *Origanum vulgare*

### RESUME

Le travail que nous avons réalisé a été consacré à l'étude de l'activité antifongique de l'huile essentielle d'une plante médicinale qui se trouve dans la région Boudriaa Ben Yadjis – Jijel vis-à-vis une souche fongique isolée à partir d'un fruit de courgette infecté, recueilli d'une serre de la même région. L'HE de la plante étudiée « *O.vulgare* » présente des activités inhibitrices significatives sur le champignon *Mucor sp* avec les concentrations élevées (HE pure, 75% et 50%), la CMI a été enregistré avec 25%. Cette activité antifongique est liée à l'inhibition de la croissance mycélienne due aux composés chimiques (thymol,  $\gamma$ -Terpinene, D-Lymonène, O-cymene, Beta-myrcene et Beta-phellanderene) qu'on a pu les séparer et l'identifier par le CPG-SM, qui sont reconnus par leurs toxicités élevés. Les résultats obtenus de l'activité antifongique de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* sur le *Mucor sp* peuvent ouvrir la voie à son utilisation comme alternative aux fongicides chimiques contre le champignon *Mucor sp*.

Mots-clés: *Origanum vulgare*, *Mucor sp*, extraction d'huile essentielle, analyse par CPG-SM, l'activité antifongique.

### Abstract

The work that we carried out was devoted to the study of the antifungal activity of the essential oil of a medicinal plant which is in the region Boudriaa Ben Yadjis – Jijel against a fungal strain isolated from an infected zucchini fruit, collected from a greenhouse in the same area. The HE of the studied plant "*O.vulgare*" showed significant inhibitory activities on the *Mucor sp* fungus with high concentrations (pure HE, 75% and 50%), the MIC was recorded with 25%. This antifungal activity is related to the inhibition of mycelia growth due to the chemical compounds ( $\gamma$ -Terpinene, Thymol, D-Lymonène, O-cymene, Beta-phellanderene and Beta-myrcene) which could be separated and identified by GC-MS, which are recognized by their high toxicity. The results obtained from the antifungal activity of *Origanum vulgare* essential oil on *Mucor sp* can be the way for its use as an alternative to chemical fungicides against the fungus *Mucor sp*.

Key words: *Origanum vulgare*, *Mucor sp*, essential oil extraction, GC-MS analysis, antifungal activity.

### ملخص

تم تكريس عملنا لدراسة النشاط المضاد الفطري بالزيت العطري لنبات طبي "الزعر" موجود في منطقة بودريعة بن ياجيس-جيجل، إزاء سلالة فطري *Mucor sp* معزولة من ثمرة كوسة مصابة، أخذت من نفس المنطقة. إن زيت النبات المدروس "الزعر" أظهر أنشطة مثبطة معنوية على الفطر *Mucor sp* مع التراكيز المرتفعة (زيت خام، 75%، 50%)، وتم تسجيل أقل تركيز مثبط (MIC) مع 25%. ويرتبط هذا النشاط المضاد للفطريات بتثبيط نمو الميسيليوم بسبب المركبات الكيميائية (تيمول، جاما ثريان، د ليمونان، ا سيمان، بتا فيلندران...) التي تم فصلها والتعرف عليها بواسطة CPG-SM، والمعروفة باسميتها العالية. يمكن أن تمهد النتائج التي تم الحصول عليها من النشاط المضاد الفطري بزيت الزعر على *Mucor sp* الطريق لاستخدامه كديل للمبيدات الفطرية الكيميائية.

الكلمات المفتاحية: الزعر، *Mucor sp*، استخراج الزيوت الأساسية، تحليل ب GC-MS، نشاط المضاد الفطري.