

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par
Sebboua Sarah

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : Microbiologie fondamentale

THÈME

**L'activité antifongique des extraits
des feuilles d'oliviers vert et noir**

Soutenue publiquement le : 13/07/2021

DEVANT LE JURY

Présidente : LAISSOUF Ahlem	MCB	(Université de Mostaganem)
Examineur : BENALI Sid Ahmed	MAA	(Université de Mostaganem)
Encadreur : CHIALI Fatima Zohra	MCA	(Université de Mostaganem)

Année universitaire : 2020_2021

Remerciements

Le grand merci s'adresse au bon DIEU, le Tout Puissant, qui est a donné le courage, la force et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

J'exprime mes profondes gratitudees et reconnaissances à mon encadreur madame Chiali pour avoir proposé et accepter de diriger, avec beaucoup de patience, ce sujet de mémoire de Master et je ne pouve pas jamais oublier

Ses encouragements et ses conseils.

Voulons traduire également mon vif remerciement à madame

Laisouf Ahlem

Pour nos avoir accepté de présider

Ce jury

*Monsieur **Benali sid Ahmed** pour nous avoir fait l'honneur d'examiner et de juger ce travail.*

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui m'ont donné sans rien en retour à ceux qui m'ont encouragé et soutenu dans mes moments les plus difficiles, Et ceux à qui je dois tant, a la lumière de mes yeux l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère qui m'a apporté son appui durant toutes mes années et à mon cher père pour leur support continu.

A mon cher frère, A mes très chères sœurs.

A toute ma famille, tous mes ami(e)s

A ma chère sœur et ma compagne de route Nekrouf Djouhar et à tous sa famille.

A tous ceux qui me sont chères

A tous ceux qui m'aiment.

A tous ceux que j'aime.

Que dieu les garde tous et les protège

Sarah



"ربي أوزعني أن أشكر نعمتك
التي أنعمت علي وعلى والدي
وأن أعمل صالحا ترضاه
وأصلح لي في ذريتي إني تبت
إليك وإني من المسلمين"

Sommaire :

- Résumé
- Liste des abréviations
- Liste des tableaux
- Liste des figures
- Introduction..... 1

- **Première partie : Synthèse bibliographique**

❖ **Chapitre 1: les feuilles d'oliviers**

1. L'olivier	4
1.2 Historique sur l'olivier.....	4
1.3. Description botanique.....	4
1.1 Les organes aériens	5
1.2 Système racinaire	7
1.4 Classification botanique	8
1.5 Répartition géographique.....	9
1.5.1. Dans le monde	9
1.5.2. Dans Algérie.....	10
1.6 Les variétés locales les plus cultivées	11
1.7 Les variétés introduites.....	11
2 Feuilles d'oliviers	13
2.1 Description	15
2.3. Composition chimique de la feuille d'olivier	15
2.4 Composition chimique globale des feuilles d'olivier.....	15
2.5 Composés phénoliques des feuilles d'oliviers	18
2.5.1 Définition et localisation des composés phénoliques	18
2.5.2 Composition des feuilles d'oliviers en composés phénoliques	19
2.5.3 Classification des composés phénoliques	20
2.5.4 Activités biologiques des composants phénoliques	21
2.2 Les feuilles d'olivier et la santé humaine.....	22
2.2.1 Domaines d'utilisations des feuilles d'olivier	23
2.2.2 Domaine de l'alimentation animale	23
2.2.3. Domaine thérapeutique	23

2.2.4	Domaine pharmaceutique	23
2.2.5	Domaine cosmétologique	23
2.2.6	Industries Alimentaires	23

❖ **Chapitre 2 : les champignons**

1.	Les champignons	24
1.2	Définitions	24
1.3	Champignons filamenteux	24
1.3.1	Caractéristiques morphologiques des champignons filamenteux	24
1.4	Dissémination	25
1.5	Développement des champignons filamenteux	25
1.5.1	Une reproduction asexuée	25
1.5.2	la reproduction sexuée	26
1.5.3	1.6 Les levures	26

❖ **Chapitre 3 : la relation entre champignon et les feuilles d'oliviers**

1.	Activité antifongique des feuilles d'oliviers	29
----	---	----

➤ **Deuxième partie : Partie expérimentale**

❖ **Chapitre 1: matériel et méthode**

1.	Matériel	32
1.	Matière végétale	32
2.	Préparation de matière végétale	32
2.1.	Nettoyage et séchage	32
2.2.	Broyage et tamisage	33
3.	Les souches fongiques	34
4.	Les produits chimiques	35
5.	Les matériels et verrière	35
6.	Appareillage	35
7.	Milieu de culture	35
2.	Méthode	35
2.1	Préparation extraits aqueux	35

2.2Préparation extraits par solvant	35
2.2.1Principe	36
2.2.2Méthodologie	36
2.3 Rendement de l'extraction des feuilles d'oliviers	36
2.4L'étude de l'activité antifongique	36

❖ **Chapitre2: Résultat et discussion** 36

1.L'étude l'activité antifongique	37
2.L'étude le rendement.....	38
3.Traitement la concentration minimale inhibitrice	40
➤ Conclusion	43
➤ Références bibliographiques	48
➤ Annexe	55

Résumé :

L'olivier est très répandu en Algérie et largement utilisé par les populations locales. Les propriétés médicinales de l'olivier sont surtout attribuées aux feuilles. Vu les propriétés bénéfiques de ces dernières pour la santé humaine en phytothérapie, leur persistance toute l'année et leur quantité énorme engendrée comme sous-produit de l'industrie oléicole dans les pays méditerranéens. Les feuilles d'olivier sont caractérisées par des différents composés phénoliques représentant une source importante d'oleuropéine (composé phénolique d'intérêt).

Les propriétés antifongiques de l'extrait de feuilles d'oliviers sur certaines levures ont été examinées dans cette étude. Des extraits de feuilles d'oliviers frais ont été préparés à l'aide de divers solvants eau, éthanol, acétone, acétate d'éthyle dans un appareil Soxhlet. Les effets antifongiques de ces extraits ont été testés contre cinq souches fongiques : *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces uvarum*, *Candida oleophila* et *Kloeckera apiculata*.

Mots clés : *Olea europaea* L., antifongique, concentration minimale inhibitrice (CMI) .feuilles d'oliviers et macération

Summary

The olive tree is very popular in Algeria and widely used by local populations. The medicinal properties of the olive tree are mainly attributed to the leaves. Considering the beneficial properties of the latter for human health in herbal medicine, their persistence throughout the year and their enormous amount generated as a by-product of the olive industry in Mediterranean countries. Olive leaves are characterized by different phenolic compounds representing an important source of oleuropein (phenolic compound of interest).

Antimicrobial properties of olive leaf extract on some yeast were examined in this study. Fresh olive leaf extracts were prepared using various solvents (water, ethanol, acetone, ethyl acetate) in Soxhlet apparatus. Antimicrobial effects of these extracts were tested against *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763, *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces uvarum*, *Candida oleophila*, *Metschnikowia fructicola* and *Kloeckera apiculata*.

Key words : *Olea europaea* L., antifungal, minimum inhibitory concentration (MIC), olive leaf and maceration

ملخص :

تحظى شجرة الزيتون بشعبية كبيرة في الجزائر ويستخدمها السكان المحليون على نطاق واسع تعود الخصائص الطبية لشجرة الزيتون بشكل أساسي إلى الأوراق، بالنظر إلى الخصائص المفيدة لهذه الأخيرة لصحة الإنسان في طب الأعشاب و استمرارها على مدار العام و كميتها الهائلة الناتجة عن صناعة الزيتون في دول البحر الأبيض المتوسط، تتميز أوراق الزيتون المركبات فينولية مختلفة تمثل مصدرا مهما لإليورين مركب فينولي مهم.

تم هذه الدراسة فحص الخواص المضادة للفطريات المستخلص أوراق الزيتون على انواع معينة من الخمائر، و تم تحضير مستخلصات أوراق الزيتون الطازجة باستخدام مذيبات مختلفة، ماء، إيثانول، أسيتون، أسيتات إيثيل في خمس سلالات فطرية

Saccharomyces cerevisiae ATCC 9763, *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces uvarum*,
Candida oleophila, *Metschnikowia fructicola* and *Kloeckera apiculata*.
الكلمات المفتاحية:،، *Olea europaea* L، مضاد الفطريات ادنى تركيز مثبط CMI أوراق الزيتون، النقع

Liste des abréviations :

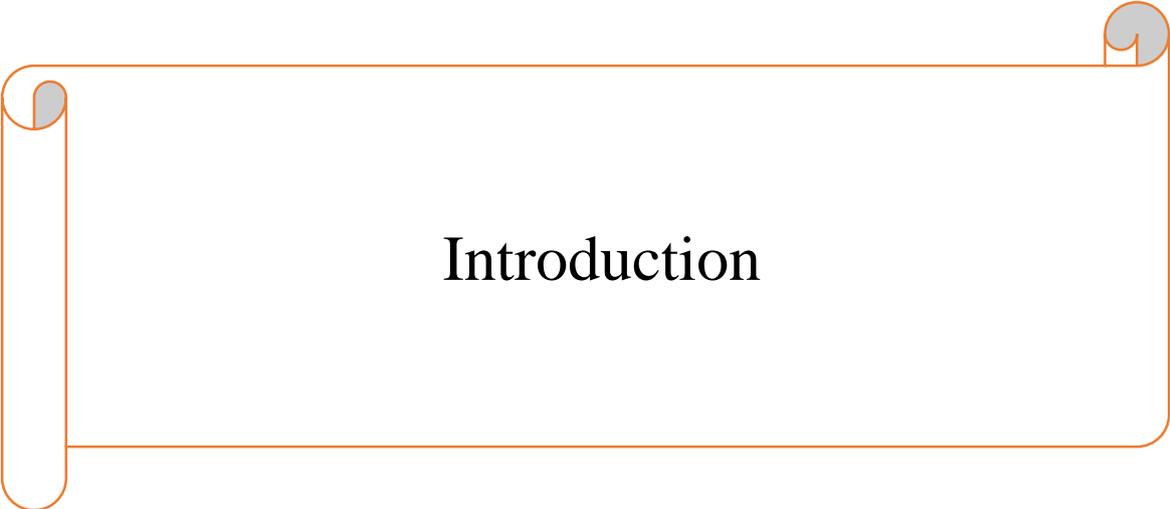
- PDA : Potato Dextrose Agar (dextrose de pomme de terre et agar)
- CMI : Concentration minimal inhibitrice
- DO : Densité optique
- ATCC : Américain type culture collection
- GN : Gentamycine
- % : Pourcentage
- C° : Degré de Celsius
- UFC/ml : unité formant une colonie /millilitre
- Mm : Millimètres
- SDA : Sabouraud. dextrose agar

Liste des tableaux :

TABLEAU 1 : Composition des fruits d'olives de table.....	7
TABLEAU 2 : Les différents composants chimiques globaux des feuilles d'oliviers.....	16
TABLEAU 3 : Composition en acides amines des feuilles d'oliviers fraiche	17
TABLEAU 4 : composition en minéraux des feuilles d'oliviers	18
TABLEAU 5 : Les différentes classes des composants phénolique	21
TABLEAU 6 : Indications cliniques des extraits des feuilles d'oliviers.	22.
TABLEAU 7: Détermination des diamètres des zones d'inhibition en (mm) des souches en présence des extraits étudiés.....	40
TABLEAU 8 : Détermination des diamètres des zones d'inhibition en mm des olives noires et vertes.....	42
TABLEAU 9 : Détermination la concentration minimale inhibitrice pour les extraits.....	44

Listes des figures

▪ Figure 1: le tronc d'olivier	5
▪ Figure 2: Fleur d'olivier	5
▪ Figure 3: feuilles d'olivier.....	6
▪ Figure 4: les différents formes des fruits	6
▪ Figure 5: olive de table vert et noir	7
▪ Figure 6 : Développement du systèmes racinaire du oliviers	8
▪ Figure 7: Olea europaea.....	9
▪ Figure 8 : Répartition géographique de l'olivier dans le monde.....	10
▪ Figure 9 : Distribution potentiel d 'olivier en zone méditerranéenne.....	10
▪ Figure10 : les différentes formes des feuilles d'oliviers	15
▪ Figure 11 : Formule brute et chimique d'une fraction	18
▪ Figure 12 : structure chimique de quelques composés phénoliques identifié dans les feuilles d'oliviers.....	20
▪ Figure 13 : Les différentes formes des utilisations des extraits des feuilles d'oliviers pour consommation humain.....	24
▪ Figure 14 : l photographie des feuilles d'oliviers	32
▪ Figure 15 : les feuilles d'oliviers avant et après séchage	32
▪ Figure 16 : photographie des poudres des feuilles obtenue après broyage	33
▪ Figure 17 : Schéma de protocole de préparation extraits aqueux	36
▪ Figure 18 Schéma de protocole de préparation des extraits par solvant	37
▪ Figure 19 les différents des zones d'inhibition obtenu avec les différents extraits	41
▪ Figure 20 : les zones d'inhibition pour l'olive vert et noire	42
▪ Figure 21 : Rendement d'extraction par des feuilles par les quatre types des solvants.....	43
▪ Figure 22 : Représentation graphique des valeurs CMI sur les souches avec	



Introduction

Introduction :

Depuis des siècles, les produits naturels constituent une source importante pour la recherche de nouveaux composés actifs utilisés pour soigner de nombreuses maladies (Mpiana et al, 2009)

L'olivier (*Olea europaea*. L) constitue une essence fruitière principale, dans le bassin Méditerranéen, tant par le nombre de variétés cultivées que par l'importance sociale et économique de sa culture et de son rôle environnemental.(Gomes et al, 2012).

Les plantes et la phytothérapie constituent la source majeure de médicaments grâce à la richesse de ce qu'on appelle le métabolisme secondaire cependant l'homme n'a découvert les vertus bénéfiques des plantes que par une approche progressive. Les plantes peuvent synthétiser un grand nombre de molécules organiques complètes dotées souvent d'activités biologiques potentielles.

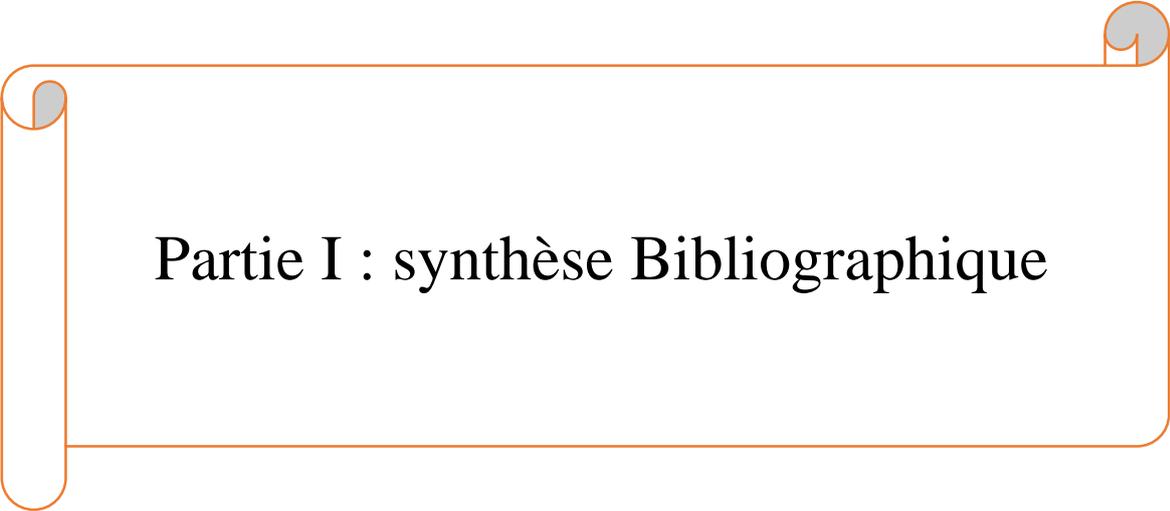
L'olivier est considéré comme une plante aromatique et médicinale, réservoir de composé naturelle aux effets bénéfiques. certaines composés identifiés dans les extraits de feuilles, tels que les composés phénoliques présentant des activités biologiques importantes. (Bisganano et al, 1999).

En Algérie la culture de l'olivier constitue une composante importante du processus du développement durable (Sahli et Mekersi, 2005). La variété la plus rencontrées en Algérie est« Chemlel » pour la production de l'huile, les Sigoise et Azeradj pour la production de l'huile d'olive de table.Sévilance pour la production d'olive de table.

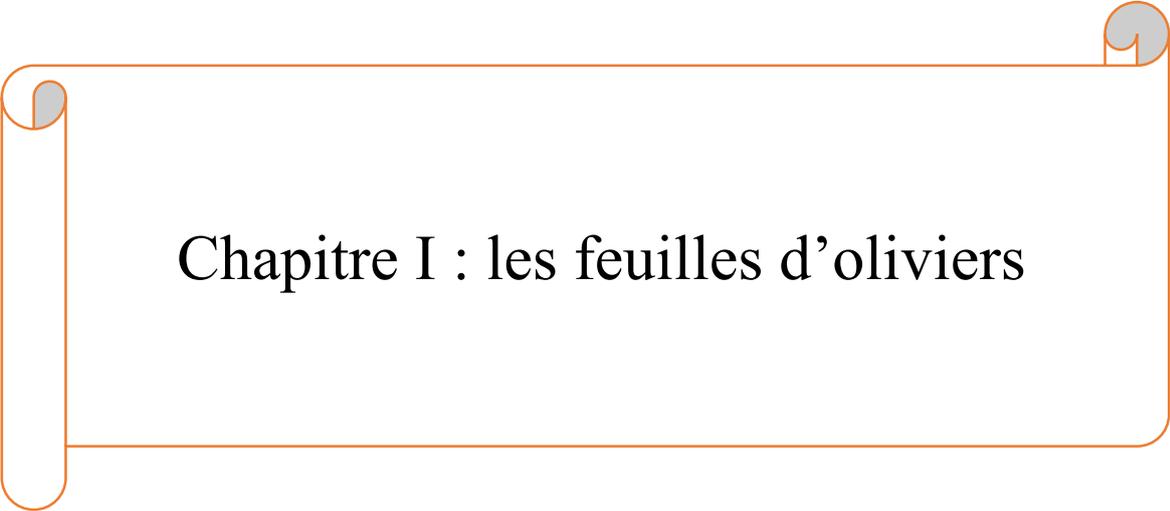
Dans ce travail, j'ai intéressé à recherche l'activité antifongique de l'extrait des feuilles des oliviers vert et noir, cet arabe qui couvre une superficie de 9500000 hectares dans le monde, poussent surtout en région méditerranéenne.(Verdier., 2003) La bassin Méditerranéen reste une zone privilégiée par rapport au reste du monde pour la culture de l'olivier grâce à son climat adéquat tant au niveau de la température qu'au niveau de l'hygromètre. (Ghedira. 2008).

Dans le but de réaliser ce travail notre mémoire on a envisagé le plan suivant :
Introduction générale. Première partie sera consacrée à une synthèse bibliographique, subdivisée en trois chapitres: un chapitre sur les feuilles d'oliviers un autre sur les champignons et pour le troisième chapitre c'est la relation entre les fongiques et les feuilles d'oliviers

Deuxième partie concerne la partie expérimentale, subdivisé en deux chapitres : un premier chapitre sur matériel et méthodes, et un autre sur résultats et discussion. A la fin une conclusion générale, résumera les principaux résultats obtenus.



Partie I : synthèse Bibliographique



Chapitre I : les feuilles d'oliviers

1.L'olivier :

1.2 Historique sur l'olivier :

L'olivier est un arabe de la famille des oléacées cultivé dans les régions de climat méditerranéen pour produire de l'olive, qui donne une huile recherchée «l'huile d'olive». Depuis l'Antiquité, l'olivier a façonné le paysage méditerranéen. Il est connu chez les phéniciens depuis la haute Antiquité, il est désigné par le mot Zeïtoun, ce mot est couramment employé dans le vocabulaire Amazigh.

L'olivier a une origine très ancienne, son apparition et sa culture remontent à la préhistoire où il a été considéré comme étant une espèce sauvage, mais nous ne pouvons pas déterminer avec certitude la voie de son expansion, progressive et intermittente au cours du temps (**Loussert et Brousse, 1978**).

En Grèce et plus spécifiquement en île de Crète à partir de vers 3500.00 avant Jésus Christ elle appartient dans l'histoire et les mythes comme symboles de force, de longévité de paix, foi et fertilité. (**Lallas et al, 2011**).

Dans la culture arabo-musulmane, l'olivier est l'un des arbres cités dans le coran où il est dit «Dieu est la lumière des cieux et de la terre. Sa lumière est comparable à une niche où se trouve une lampe. La lampe est dans un verre; le verre est semblable à une étoile brillante. Cette lampe est allumée à un arbre béni : l'olivier qui ne provient ni de l'orient ni de l'occident et dont l'huile est prise d'éclairer sans que le feu la touche» (**Sourate, la lumière 35**).

1.3 Définition :

L'olivier est un arbre de la famille des oléacées moyennement trapu de 2 mètres parfois très large et de plusieurs mètres de circonférence, se divise assez bas en de grosses branches tortueuses. Il présente des rameaux fins parfois épineux. Les troncs se déforment et forment de magnifiques sculptures naturelles. Toutes les parties de l'olivier sont utilisées, et cela depuis la plus haute Antiquité. Le bois, jaune à brun clair, joliment veiné et marbré, très dur, lourd et homogène permet le façonnage d'objets traditionnels (**André belot ,al 2004**).

1.4. Description botanique :

L'olivier se multiplie par voie végétative soit par bouture, soit souchet. Situées sur l'olivier à la base du tronc.

1.4.1 Le système aérien :

La partie aérienne d'un plant d'olivier comprend : le tronc, les charpentières, la frondaison et les rameaux fructifères (**Loussert et Brousse, 1978**).

- Le tronc :

La structure du port de l'olivier varie avec la variété et les conditions du milieu. A maturité, le tronc au départ verdoyant, régulier et lisse devient irrégulier, noueux, tortueux et marqué de reliefs longitudinaux. Les branches sont insérées dans le tronc, elles portent les rameaux sur lesquels naissent les bourgeons (ramification de l'année) (**Villa, 2003**).



Figure 1 : Le tronc d'oliviers

<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Olive-tree-trunk-0.jpg>

- Les charpentiers :

Ce sont de grosses ramifications destinées à former la charpente de l'arbre. Il s'agit des charpentières maîtresses ou branches mères qui prennent naissance sur le tronc et des sous charpentières ou sous branches mères qui se développent sur les charpentières (**Loussert et Brousse, 1978**).

- Fleur :

Elles sont réunies par groupes de dix à quarante en grappes lâchés axillaires blanc verdâtre et odorantes, d'avril à juin la fleur est formée de quatre pétales soudés en petite cloche ouverte contenant deux étamines. (**André belot Al, 2004**)



Figure 2 : Fleur d'olivier (Sebboua ; 2021)

- Feuilles : mesurant de 3 à 8 cm, elles sont persistantes presque opposées et allongées de couleur glauque un peu sombre au-dessus et blanc argenté en dessous, elle sont portées par un court pétiole. La nervure médiane est très visible. (André belot al,2004).



Figure 3 : feuilles d'oliviers (Sebboua ;2021)

- Fruits : l'olive est un petit fruit ellipsoïde d'environ 2 Cm de longueur qui comporte un noyau lui-même allongé. C'est la partie charnue où pulpe qui est comestible à plein maturité, c'est elle qui contient l'huile de 15% à 25% en poids selon les variétés. (Max lambert ,1993).

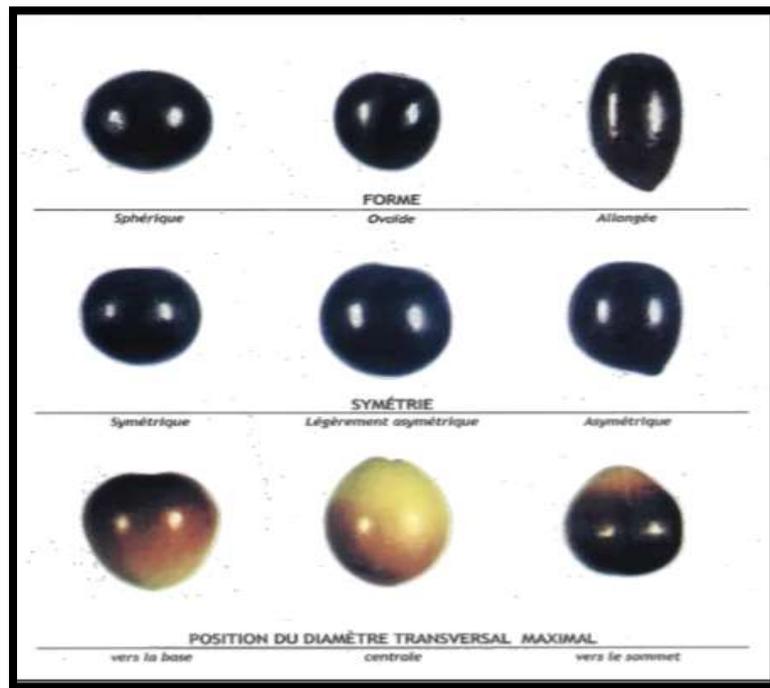


Figure 4 : Les différents formes des fruits (ITAFV ,2008)

Composition des fruits :**Tableau 1 :** composition le fruit d'olive de la table

	Pulpe(épicarpe+mésocarpe)	Coque du noyau(endocarpe)	Amandon
Eau %	24.2	4.2	6.2
Lipides %	56.4	5.25	12.26
Protides %	6.8	15.6	13.8
Glucides %	9.9	70.3	65.6
Cendres %	2.66	4.16	2.16

Vert et noire:

Comme nous venous de le noir toutes les olives deviennent noire lorsque elle sont mûres, les olives vert sont donc à peu près les mêmes variétés que l'on cueille avant maturité soit avant le 15 novembre voir plus loin quelques indications sur les variétés.

**Figure 5 :** olive de table vert et noir (www.wikipedia com.)**1.4.2 Le système racinaire :**

L'olivier possède un système racinaire fasciculé très puissant, généralement situé sous le tronc dans une profondeur de 50 à 70 cm. Des rejets, assureront la pérennité de l'arbre (**Argenson et al., 1999**).

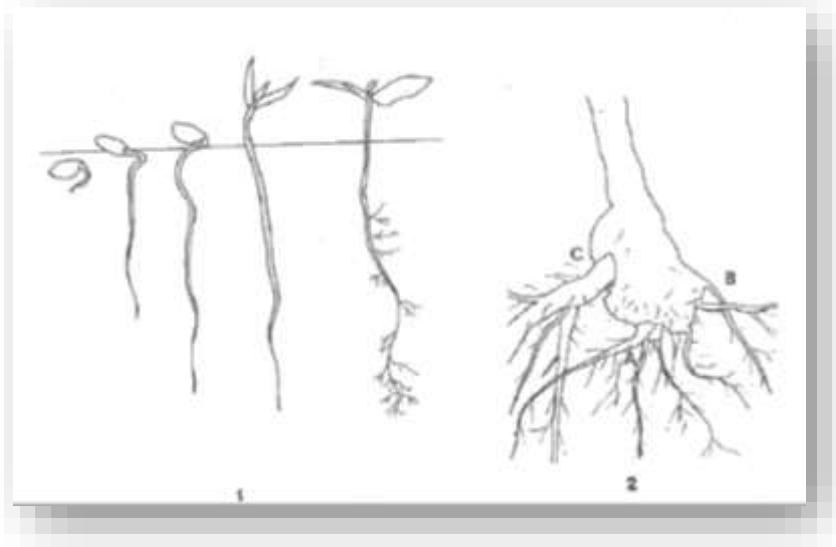


Figure 6: Développement du système racinaire de l'olivier (Loussert et Brousse, 1978).

1 : germination du noyau d'olivier ; 2 : évolution du système racinaire d'un olivier de semis ;
 A : système racinaire à la plantation, B : système racinaire secondaire, C : nouvelle racine émise
 à partir des excroissances du collet (souchet) (Loussert et Brousse, 1978).

- **Développement en profondeur :** si on sème un noyau d'oliviers, le système racinaire olivier tendance pivotante.

Les modifications sont observées sous l'effet des transplantations successives et des racines secondaires sur forme à laquelle se développera les chevelures racinaires.

- **Développement en latéral :**

Le développement du système racinaire fasciculé qui assure l'extension latérale à partir du tronc de l'ensemble racinaire. Ces racines très ramifiées portent un grand nombre de radicelles particulièrement fonctionnelles pour la nutrition.

1.5 classifications botaniques :

La classification botanique de l'arbre de l'olivier selon (Guignard, 2004)

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Scrophulariales

Famille : Oleaceae

Genre : Olea

Espèce : europaea

Sous-espèces : *Olea europaea* L. ssp. *Oleaster* Hoffm. Et Link (*O. europaea* L. ssp. *Sylvestris* Miller).

- ❖ L'olivier cultivé ou *Olea sativa* : Arbre à rameaux cylindriques, avec de grandes variations dans le feuillage et la taille des fruits suivant les variétés.
- ❖ L'olivier sauvage ou *Olea silvestris* (ou *Olea Oleaster* appelé Oléastre), arbrisseau à rameaux quadrangulaires et épineux, à petites feuilles courtes et petits fruits. (**Georges et Aillaud, 1985**).



Figure 7 : *Olea europaea* L

- **1.6 Répartition géographique**

- **1.6.1. Dans le monde:**

- L'olivier est aujourd'hui cultivé dans toutes les régions du globe se situant entre les latitudes 30° et 45° des deux hémisphères, des Amériques (Californie, Mexique, Brésil, Argentine, Chili), en Australie et jusqu'en Chine, en passant par le Japon et l'Afrique du Sud. On compte actuellement plus de 900 millions d'oliviers cultivés à travers le monde, mais le bassin méditerranéen est resté sa terre de prédilection, avec près de 95% des oliveraies mondiales (**Benhayoune et Lazzeri, 2007**).

Le nombre mondial d'olivier est évalué à 784 millions, dans 754 millions dans le bassin Méditerranéen.(Ghedira ,2008)

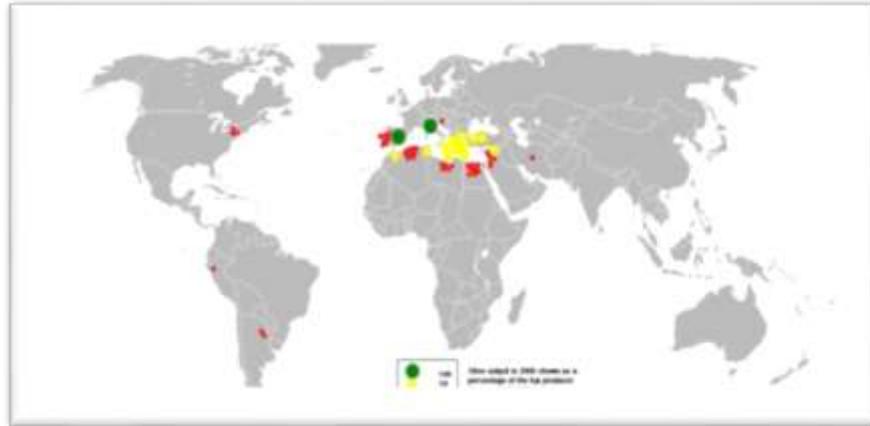


Figure 8 : Répartition géographique de l'olivier dans le monde (Ghedira et al,2008)

1.6.2 Dans Algérie :

L'Algérie fait partie des principaux pays méditerranéens dont le climat est plus propice à la culture de l'olivier. Le patrimoine oléicole Algérien est estimé à 32 millions d'oliviers, ce qui représente 4,26% du patrimoine mondial. Cette filière se concentre dans certaines wilayas comme Bejaia, Tizi-Ouzou et Bouira qui ont produit à elle seules en 2008 ,179180 hectolitres d'huile sur une superficie de 108893 ha, soi 51% de la production nationale et environ 44% du verger national oléicole. Ces trois wilayas sont spécialisées beaucoup plus sur la production d'huile (Lazzeri, 2009)

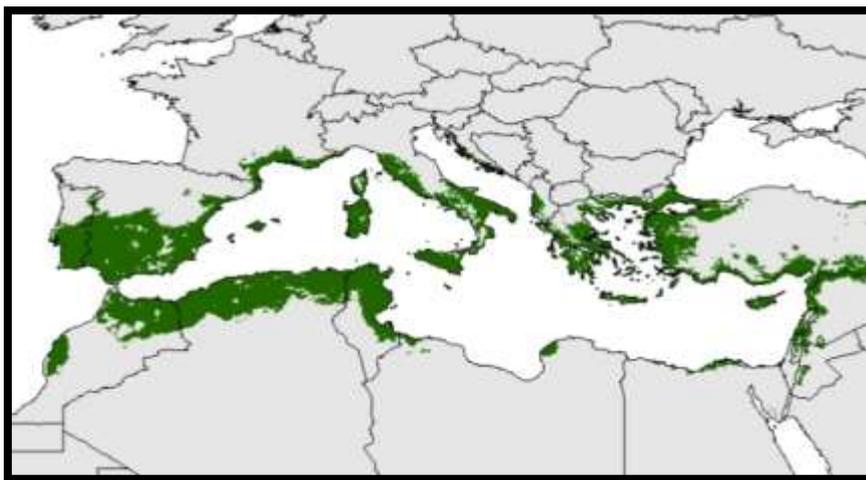


Figure 9 : Distribution potentiel d 'olivier en zone méditerranéenne (Ghedira et al ,2008)

1.7 Les variétés locales les plus cultivées :

D'après Boukhari (2014) :

- ❖ Chemlel: C'est la variété la plus dominante en Algérie, elle représente près de 45% du patrimoine oléicole nationale.
- ❖ Ségoise : C'est une variété auto-fertile, elle représente 20% du verger oléicole national. Généralement, elle se localise à l'Ouest du pays allant d'Oued Rhiou jusqu'à Tlemcen. C'est une variété à deux fins.
- ❖ Azeradj et Bouchouk: Elles accompagnent généralement les peuplements de Chemlal dont Azeradj améliore la pollinisation. Elles présentent un gros fruit destiné à la conserverie et même à la production d'huile.
- ❖ Limli : représente 8% du verger oléicole national, elle se rencontre dans la région d'Oued Soummam.
- ❖ Rougette de Mitidja : C'est une variété à huile installée dans la plaine de Mitidja et sur le piémont de l'Atlas, à faible altitude.
- ❖ Rougette de Guelma et blanquette de Guelma : Elles se trouvent en association dans la région Est du pays.

1.8 Les variétés introduites D'après Boukhari (2014)

❖ -Cornicabra et Sévillane:

La première est tardive et la deuxième est précoce ; d'origine espagnole, elles se localisent à l'Ouest du pays.

- ❖ -Frantoio et Leccino : Introduites récemment, d'origine italienne.
- ❖ -Lucques : d'origine française, elle est souvent associée à la Sigoise.
- ❖ -Gordal et Verdial : originaires d'Espagne.

2 .les feuilles des oliviers :

2.1 Description botanique les feuilles des oliviers :

Les feuilles d'olivier sont de forme ovales allongées, persistantes opposées. Elles sont portées par un court pétiole rétrécie à la base et mucronées à l'apex. Ses bords sont réfléchis de longueur de 4-10cm et de 1-3cm de largeur. La face inférieure est pubescente le long des nervures de couleur blanc argenté et la face supérieure vert foncé luisant et lisse (**Bruneton.2009**). Inodore, amère et acerbe, elles vivent en moyenne trois ans puis jaunissent et tombent, principalement en été (**Molina-Alcaide et al., 2008**). La production des feuilles d'olivier est estimé de 25 kilogrammes par olivier (**Boudhrioua et al, 2008**)

Les feuilles d'oliviers à son propre système de protection contre la chaleur de l'été

L'évaporation se fait par la face inférieure où se trouvent les stomates ,organes constitués l'orifice microscopiques qui composent l'épiderme de la feuille et les minuscules poils qui les recouvrent .lorsque l'aire est humide .les poils se soulèvent et libèrent de la vapeur d'eau

Lorsque l'air est sec ,les poils se plaquent , bouchant d'ouverture des stomates, empêchant ainsi toute transpiration(**boulmant et al , 2015**)



Figure 10 :Les différente forme des feuilles d'oliviers (**ItaFv , 2008**)

2.2 Composition chimique de la feuille d'oliviers :

La composition chimique des feuilles d'olivier varie en fonction de nombreux facteurs : la variété, Les conditions climatiques, de l'âge des plantations ainsi que l'époque de récolte (**Nefzaoui, 1995**).

2.3 Composition chimique globale des feuilles d'olivier

les différent composés chimiques sont regroupés dans le tableau ci-dessous

La composition chimique des feuilles varie en fonction de nombreux facteurs : variété, conditions climatiques, époque de prélèvement, âge des plantations (**Nefzaoui, 1995**). Les

feuilles fraîches d'olivier sont caractérisées par une matière sèche aux alentours de 50%. Le Tableau 02 montre sa composition chimique globale. Les feuilles sont particulièrement riches en carbohydrates. La matière organique est constituée par des protéines, des lipides, des monomères et polymères phénoliques (tel que les tannins) et principalement par des polysaccharides (tel que cellulose, hémicelluloses).

Tableau 2 : Composition chimique globale des feuilles d'oliviers

Composition en %	GARCIA- GOMEZ et al. (2003).	MARTIN- GARCIA ET al. (2006)	BOUDHRIOUA et al. (2009).	BOUDHRIOUA et al. (2009).
Eau	Nd	41.4b	46.2b	7,0b
Protéines	Nd	Nd	5.0-7,6a	6,5a
Lipides	6.2b	3.2b	1,0- 1,3a	3,6b
Minéraux	26.6b	16.2b	2,8-4,4a	27,5a
Glucides	Nd	Nd	37,1-42,5a	7,0a
Fibres brutes	Nd	Nd	Nd	Nd
Cellulose	19.3b	Nd	Nd	Nd
Polyphénols	25.4b	2.5b	Nd	Nd
Tanins solubles	Nd	Nd	1,3_2,3b	Nd
Tananes condense	Nd	0.8b	Nd	Nd
Lignine	30.4b	Nd	Nd	Nd

a : correspond aux valeurs exprimées par rapport à la masse fraîche des feuilles d'olivier.

b : correspond aux valeurs exprimées par rapport à la masse sèche des feuilles d'olivier.

nd : valeur non déterminée.

Tableau 3 : Compositions des acide amine des feuilles d'oliviers fraiche(exprime en g par kg d'azote total)selon Martin Garcia et Molin Alcoide 2008

Acides amines	Concentrations
Acide aspartique	27,5
Acide glutamique	35,1
Serine	44,5
Glycine	79,6
Histidine	25,4
Arginine	162,0
Thorine	46,8
Alanine	73,8
Proline	84,2
Tyrosine	32,3
Valine	74,8
Méthionine	5,3
Cystéine	1,6
Isoleucine	58,8
Leucine	10,4
Pherylalanine	51,8
Lysine	19,1
Acide aminés essentiels	541
Acide aminé non essentiel	379
Acide amine totaux	926

Tableau 4: Composition en minéraux des feuilles d'olivier (exprimé en g par Kg de matière sèche) (selon Fegeros et al., 1995) .

Minéraux	Concentrations
Calcium Ca	12,7
Phosphore P	2,1
Manganèse	1,9
Potassium k	6,3
Fer Fe	273,00
Cuivre Cu	10,7
Zinc	21,3
Magnésium	50.0

2.4 Les composés phénoliques des feuilles d'olivier

Généralité sur les composés phénoliques

2.4.1. Définition et localisation des composés phénoliques :

Les composés phénoliques, métabolites secondaires, forment le groupe des composés organiques phytochimiques le plus important dans le royaume des végétaux avec plus de 8000 structures phénoliques présents dans tous les organes de la plante (**Beta et al., 2005**). L'élément structural de base est un noyau benzoïque auquel sont directement liés un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester, sucre...) (**Bruneton, 1993**).

Cette définition chimique n'est cependant pas tout à fait satisfaisante car elle inclut d'autres composés dont certaines hormones. Une définition métabolique lui est parfois préférée. Les composés phénoliques des plantes sont alors décrits comme les substances dérivées de la voie métabolique de l'acide shikimique (**Robards et al. 1999; Sanoner, 2001**). Le terme de polyphénols est souvent consacré par l'usage pour désigner les composés phénoliques

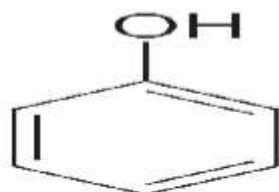


Figure 11 :Formule brute et chimique d'un fraction phénol (Wikipedia .org)

2.4.2. Composition des feuilles d'olivier en composés phénoliques

La teneur en composés phénoliques dans les feuilles d'olivier varie entre 2,8 mg/g de matière sèche (Altiok et al, 2008) et 44,3 mg/g de matière sèche (Boudhrioua et al, 2009). Elle peut même dépasser les 250 mg/g de matière sèche (Mylonaki et al, 2008).

- **Monomères phénoliques:**

Selon Altiok et al, (2008), les monomères phénoliques sont représentés par : - Acides phénoliques tels que : acide caféique, acide vanillique et acide syringique.

Alcools phénoliques tels que : tyrosol et hydroxytyrosol.

- Des flavonoïdes tels que : apigénine, lutéoline, rutine.

- **Polymères phénoliques:**

Les polymères phénoliques sont représentés par :

- **Les tannins** : sont des composés naturels des végétaux, ayant une capacité de se complexer fortement avec les hydrocarbures et les protéines. Les tannins sont classés en deux groupes majeurs : les tannins solubles et les tannins condensés (Garro.galvez , 1997). Selon (Fergeros et al. 1995), ces deux groupes représentent, respectivement 0,3 et 1% /MS.

- **La lignine** : les teneurs en lignine varient de 14,2% /MS à 30,4% /MS (FERGEROS et al., 1995 ;GARCIA-GOMEZ ET al., 2003).

- **L'oleuropéine:**

L'oleuropéine ou oleuropéoside, un hétéroside sécoiridoïdes est présente dans l'olivier et ses produits dérivés (huile d'olive, margine et grignon) .c'est le composé bioactif le plus abondant et majeur dans les feuilles d'oliviers, la teneur moyenne varie de (60_90 mg/g)(Araqas,2013,talhouin et al 2015.)

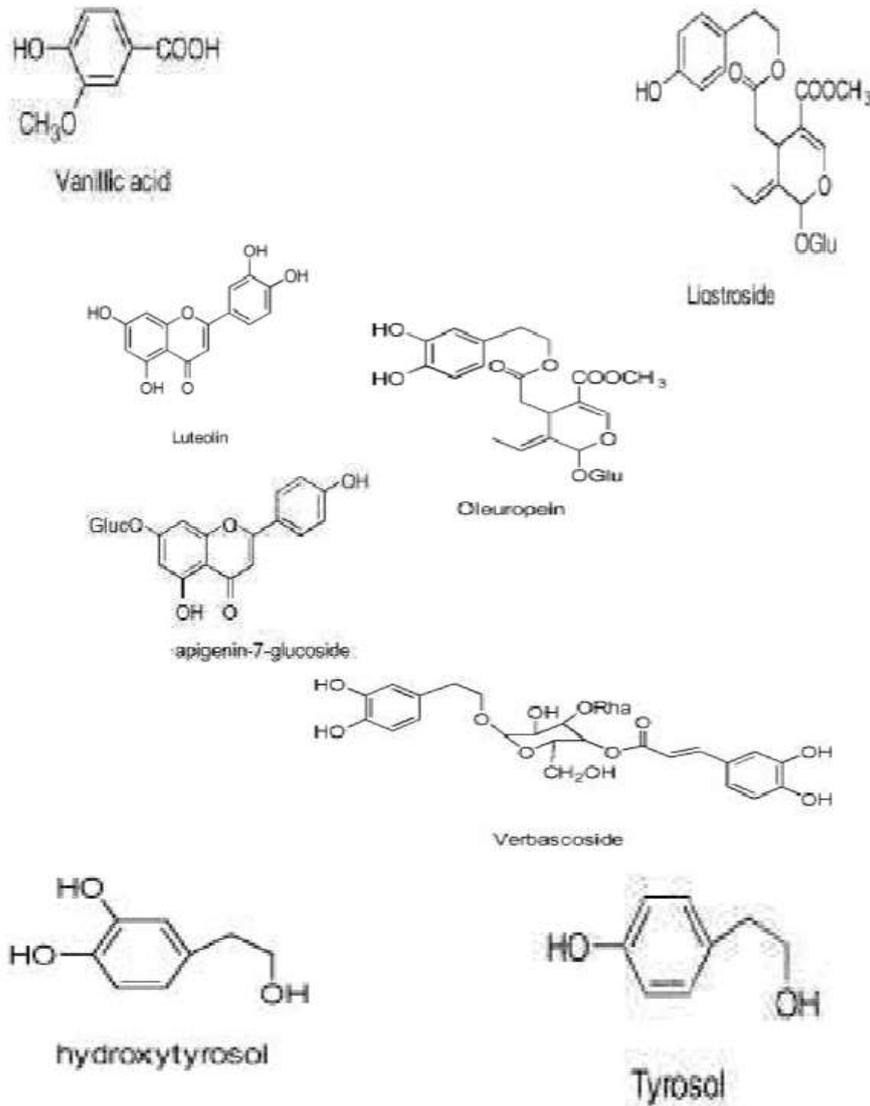


Figure 12 :Structure chimique de quelques composés phénoliques identifiés dans les feuilles d'oliviers. (Wikipedia org).

2.5 Classification des composés phénoliques

Les composés phénoliques des plantes sont répartis en différentes classes selon la structure de leur squelette de base. **Harborne et Simmonds (1964)** ont classifié les composés phénoliques en groupes en se basant sur le nombre du carbone dans la molécule.

Tableau 5 : la classification des composants phénoliques

Structure	Classe
C6	Phénols simples
C6-C1	Acides phénoliques
C6-C2	Acétophénone et acides phenylacétiques
C6-C3	Acides cinnamiques, aldéhydes cinnamyl, alcools cinnamyl, coumarins, isocoumarins et chromones
C15	Chalcones, aurones, dihydrochalcones, flavans, flavones, flavanones, flavanonols, anthocyanidins, anthocyanins,
C30	Biflavonyls
C6-C1-C6, C6-C2-C6	Benzophénone, xanthone, stilbenes
C6, C10, C14	Quinones
C18	Betacyanins
Lignans, neolignans	Dimers ou oligomères
Lignin	Polymères
Tannins	Oligomères ou polymères
Phlobaphènes	Polymères

2.6 Activités biologiques des composants phénoliques

Les activités biologiques relatives à ce type de composés sont relativement diversifiées. Chaque classe chimique de polyphénols semble être utilisée pour ses vertus spécifiques (**Martin et Andriantsitohaina, al 2002**). Les composés phénoliques sont principalement reconnus pour leur activité antimicrobienne et antioxydante, cette dernière est d'un intérêt général avec les récentes découvertes sur la prévention des cancers (**Karakaya, 2004**). Certains d'entre eux, tel que les coumarines, possèdent des propriétés anti-inflammatoires (**Fylaktakidou et al., 2004**)

L'utilisation des feuilles d'olivier en phytothérapie par la population locale se fait l'état naturel infusion ou décoction (**Arab et al, 2013**).

En phytothérapie, l'effet de nombreuses plantes médicinales est attribué en tout ou partie aux composés phénoliques dans ces plantes. Ces substances possèdent des activités biologiques qui les rendent bénéfiques à la santé humaine. Beaucoup d'études indiquent que les polyphénols pourraient diminuer le risque de survenue d'un certain nombre de pathologies, en particulier celles liées au vieillissement et aux lésions oxydatives (cancers, maladies cardiovasculaires ou neurodégénératives) (**Leong et Shui, 2002**).

2.7 Les feuilles d'olivier et la santé humaine

Les plantes peuvent synthétiser un grand nombre de molécules organiques complètes dotées souvent d'activités biologiques potentielles. Les utilités thérapeutiques d'*Olea europaea* ont été indiquées en médecine traditionnelle elles ont été connues pour réduire la glycémie, le cholestérol et l'acide urique (Arab et al ,2013) elles ont également été utilisées pour traiter le diabète, l'hypertension (Jemai et al ,2008) .

Autres intérêts des feuilles d'oliviers :

Tableau 6 : les indications cliniques des feuilles d'oliviers

Mécanismes d'action et indications cliniques	Références bibliographiques
Activité vasodilatateur	ZARZUELO et al., 1991.
Activité antioxydante	BENAVENTE-GARCIA et al., 2000 ; BRIANTE et al., 2002 ; ALTIOK et al., 2008 ; HAYES et al., 2010.
Action antiviellissement	AKEMI et al., 2001 (brevet) ; TADASHI, 2006 (brevet).
Activité antiviral (contre HIV)	LEE-HANG et al., 2003 ; BAO et al., 2007.
Activité antimicrobienne	MARKIN et al., 2003 ; PEREIRA et al., 2007
Activité antivirale (contre VHSV)	MICOL et al., 2005.
Activité antiallergique	MASATAKA et al., 2007.
Activité antifongique	KORUKLUOGLU et al., 2008.
Activité anti-cardiovasculaire	SCHEFFLER et al., 2008 ; SINGH et al., 2008 ; FONOLLA et al., 2010
Activité gastro-protective	DEKANSKI et al., 2009.
Activité anti-cancérogène	Kimura et Sumiyoshi, 2009 ; BOUALLAGUI et al., 2011
Activité anti-inflammatoire	MILJKOVIC et al., 2009.
Activité neuro-protective	MOHAGHEGHI et al., 2011.

Actuellement et avec l'évolution de la technologie et l'amélioration des connaissances. Les domaines d'utilisation, des feuilles d'oliviers ont été élargis et de nos jours les feuilles d'oliviers sont utilisées par extraction des composants d'intérêt.

2.8 Domaine d'utilisation des feuilles d'oliviers :

2.8.1 Domaine de l'alimentation animale :

Les feuilles sont utilisées dans l'alimentation des moutons et chèvres (**DELGADO- PERTINEZ et al., 2000 ; (MARTIN-GARCIA et al., 2003)**). Elle sont également utilisées dans l'alimentation des dindes pour améliorer la qualité de leurs viandes (**BOTSOGLOU et al., 2010**).

2.8.2-Domaine thérapeutique :

La consommation humaine d'infusion des feuilles d'olivier est bénéfique pour la santé (**GIAO et al., 2007**). Les feuilles d'olivier sont dotées d'un pouvoir anti-inflammatoire, antifongique et antimicrobien (**TALHAOUI et al., 2015**).

2.8.3- Domaine pharmaceutique :

La valorisation concerne l'extraction des tocophérols et de l'oleuropéine, ainsi que la production de l'hydroxytyrosol (**DE LUCAS et al., 2002 ; BOUAZIZ et SAYADI, 2003**). D'autres substances extraite des feuilles d'oliviers sont également aussi valorisée, tels que les flavonoïdes (**Yuhong et al., 2006**). les stérols et les alcools gras (**OROZCO-SOLANO et al., 2010**).

2.8.4 Domaine cosmétologique :

les feuilles d'olivier sont largement utilisées dans la formulation des produits cosmétiques (**TADASHI, 2006 ; THOMAS et al., 2006**). Avec leur diversité structurale remarquable, ces derniers, également appelés polyphénols, constituent une richesse déjà largement exploitée par des produits cosmétiques.

2.8 5-Industries Alimentaires

Les feuilles peuvent être utilisées comme ingrédients dans la formulation d'aliments pour les hyper-glycémiques (**KOMAKI, 2003**). Stabilisant de l'huile de tournesol (**FARAG et al.2007**), et de l'huile d'olive (**BOUAZIZ et al., 2008**).



Figure 13 : Les différentes formes des utilisations des extraits des feuilles d'oliviers pour consommation humaine.



Chapitre 2 : les champignons

1..Les champignons :

1.2Définitions :

Les champignons sont des organismes eucaryotes uni ou pluricellulaires dépourvus de chlorophylle les qualifiant d'organismes hétérotrophes, se nourrissant par absorption de substances très diverses, et se multipliant par des spores sexuées ou asexuées. Une source de carbone organique est donc nécessaire à leur développement. Dans l'arbre du vivant, ils constituent un groupe à part au sein des eucaryotes. Classiquement, les champignons étaient regroupés dans un règne distinct, celui des eumycètes ou cinquième règne. Les classifications les plus récentes font apparaître les champignons dans le règne unique des eucaryotes et plus précisément dans le groupe des Opisthokonta (**Ghorri, 2015**). Les champignons constituent un groupe d'organisme d'une extrême variété, des espèces microscopiques aux organismes de plusieurs kilos. Ils ont colonisé tous les milieux, terrestres ou aquatiques, et jouent un rôle primordial dans l'écologie de la planète en recyclant la matière organique morte (**Tabuc, 2007**). on distingue les champignons lévuriformes dont le thalle est réduit à un état unicellulaire, et les champignons filamenteux ou dermatophytes (**Lecellier, 2013**).

1.3 Champignons filamenteux :

Les champignons filamenteux sont considérés comme des organismes prometteurs pour la conversion en sucres fermentescibles de la biomasse végétale complexe. En effet, ils disposent d'une machinerie enzymatique complexe qui leur permet de dégrader les polymères les plus récalcitrants, tels que la lignine. Actuellement, les recherches sur ces organismes se focalisent essentiellement sur la caractérisation des enzymes impliqués dans la dégradation: glycosidases, peroxydases, lipases etc., soit via une approche biochimique, soit via une approche génomique qui vise à identifier le répertoire enzymatique présent chez de nombreuses espèces fongiques (**Lecellier, 2013**)

1.3.1 Caractéristiques morphologiques des champignons filamenteux :

Les champignons filamenteux sont composé d'un appareil végétatif appelé thalle. Il est composé de filaments ou hyphes enchevêtrés les uns par rapport aux autres, et l'ensemble des hyphes constituent un réseau appelé mycélium. Les hyphes sont diffus, tubulaires et fins avec un diamètre compris entre 2 et 15 μm et sont plus ou moins ramifiés. Chez certaines moisissures, comme par exemple *Mucor*, les cellules ne sont pas séparées par une cloison transversale, le thalle est alors dit coenocytique ou « siphonné » alors que chez d'autres, comme par exemple *Aspergillus*, le thalle est cloisonné ou « septé » (Figure 1). Les cloisons, appelées

septa possèdent des perforations assurant la communication entre les cellules. Les caractéristiques morphologiques de ces microorganismes sont liées à leur substrat nutritif. La colonisation du substrat est réalisée par extension et ramification des hyphes parfois visibles sous forme de petites tâches colorées à leur surface. Les hyphes puisent l'eau et les substances organiques dans les différents substrats qu'ils colonisent pour leur développement (**Chabasse et al, 2002; Lecellier, 2013**)

1.4 Dissémination :

Les champignons se propagent sur différents substrats, par l'intermédiaire de spores qui sont des corpuscules de 2 à 250 µm de diamètre. Les spores sont disséminées principalement par l'air ambiant ou par le contact de l'homme. Lorsqu'elles se déposent sur un substrat organique, tel que le support papier, elles germent si les conditions d'humidité et de température y sont favorables. Elles y pénètrent par voie chimique (production d'enzymes, de toxines) ou par voie mécanique en exerçant une pression sur le substrat (**Boudih, 2011**).

1.5 Développement des champignons filamenteux :

La complexité des cycles de reproduction sexuée ou asexuée est l'un des éléments qui ont entraîné la création d'un règne à part pour les champignons. La classification des espèces est d'ailleurs fondée sur ces particularités. Le cycle de vie des champignons comprend deux types de reproduction:

1.5.1 Une reproduction asexuée :

La reproduction asexuée se réalise différemment selon l'espèce: par bourgeonnement chez la levure, par individualisation d'un des segments d'un hyphe ou par formation de spores asexuées. Au cours de laquelle une spore ou un fragment de mycélium croît et se développe sur un substrat. Le mycélium émet des conidiospores à l'extrémité desquels des conidies sont émises puis disséminées (**Boudih, 2011**). Elle se fait sans fusion de gamètes. Elle correspond majoritairement à la dispersion de spores asexuées, permettant la propagation des moisissures afin de coloniser d'autres substrats. Cette forme de reproduction asexuée est appelée la sporulation. Au cours de la sporulation, ces spores, petites cellules déshydratées au métabolisme réduit et entourées d'une paroi protectrice les isolant du milieu environnant, sont produites en grande quantité par des structures spécialisées développées à partir du mycélium. Leur diamètre varie de 2 à 250 µm. Il existe différentes formes de reproduction asexuée et différents types de spores (Figure 2). Les spores peuvent être le résultat de la fragmentation (**Lecellier, 2013**).

1.5.2 La reproduction sexuée :

La reproduction sexuée nécessite la fusion de deux cellules spécialisées, ou gamètes. Elle implique la rencontre de deux mycélium de signes sexuels opposés. Un mycélium à n chromosomes va rencontrer un autre mycélium à polarité complémentaire pour donner lieu à la fusion des cytoplasmes, ce qui engendre un nouveau mycélium à $2n$ chromosomes. Les cycles de vie diffèrent d'un champignon à un autre selon leur type de spores

1.6 Les levures :

Les levures sont des champignons microscopiques unicellulaires (ou très faiblement Pluricellulaires) qui se multiplient par bourgeonnement ou sporulation. Elles ont la capacité de fermenter des matières organiques, minérales ou végétales pour produire des substances variées. On distingue trois grands groupes (**Najjar, 2010**) .

- Les levures vraies, ascosporeées appartenant à l'ordre des Endomycétales, faisant partie des Ascosporeées avec comme genre important *Saccharomyces*, - Les levures appartenant à la classe des Basidiomycètes et de l'ordre des Ustilaginales avec le genre *Filobasidiella* récemment créé (1975) par Kwong-Chung.

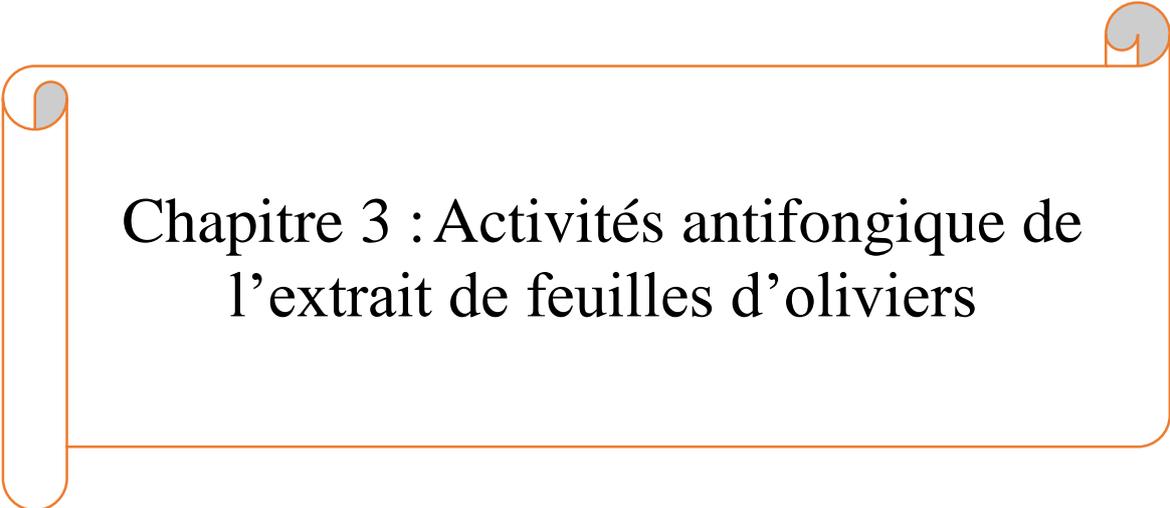
Les levures non ascosporeées appartenant aux Deutéromycètes ou Fungi imperfecti où l'on reconnaît 6 genres d'intérêt médical qui sont: *Candida*, *Cryptococcus*, *Pittosporums*, *Rhodotorula*, *Trichosporon* et *Géotrichum*. Les levures sont constituées par les espèces du genre *Saccharomyces*, agents de la fermentation alcoolique de la bière, du vin, du cidre, et des éléments actifs du levain de boulanger. C'est l'activité chimique des levures qui provoque le dégagement de bulles de gaz carbonique et fait lever la pâte à pain. Ces levures sont des cellules rondes ou ovales, qui, placées dans un milieu sucré ou glucidique, avec ou sans oxygène, se multiplient activement. *Saccharomyces pompe*: Ce groupe se caractérise par son mode de division végétatif qui est transversal alors que les autres levures bourgeonnent. Elle a une forme rectangulaire. *Saccharomyces cerevisiae*. Au microscope, elle apparaît de formes arrondies ou ovoïdes (**Najjar, 2010**).

Informations sur *Saccharomyces cerevisiae*

Les levures sont les premiers microorganismes à avoir été utilisés par l'homme, initialement de façon empirique. Ainsi, les Sumériens, les Babyloniens et les Égyptiens ont laissé des traces iconographiques et/ou écrites, vieilles de plusieurs milliers d'années, de la production de boissons alcoolisées par fermentation et de l'utilisation des levures dans la fabrication du pain.

Elles sont également les premiers microorganismes à avoir été observés au microscope par A. Van Leeuwenhoek qui les a dessinées vers 1680 et en a même réalisé des modèles tridimensionnels en cire. Au dix-neuvième siècle, c'est à la suite de ses travaux sur les levures que Pasteur contribua à la fondation de la microbiologie. (**Guiraud 1998**). La levure fut aussi à l'origine du développement de la biochimie avec notamment les travaux de Büchner à la même époque. Plus près de nous, elle fut - et continue d'être - un organisme modèle chez lequel de nombreux processus cellulaires et moléculaires communs à toutes les cellules ont été élucidés. Les levures sont des champignons unicellulaires et présentent donc une structure cellulaire eucaryote. Leur seule caractéristique commune est l'état unicellulaire bien que de nombreuses levures soient aussi capables de faire dans certaines conditions un pseudo-mycélium comme le genre *Brettanomyces*, voire un véritable mycélium comme *Candida albicans*. Quoique les cellules des levures ne soient pas mobiles par elles mêmes. (**Guiraud 1998**)

Les champignons sont la principale cause de maladies chez les plantes et sont responsables d'environ 70 % des maladies des plantes cultivées. On estime entre dix milles et quinze milles espèces, le nombre d'organismes des types champignons ou pseudo-champignons susceptibles d'infecter les plante . (**Catherine et Roger, 2005**). les champignons qui causent des infections cutanées sévères (par exemple, *Sporotrix schenkii*) et les champignons qui ont le potentiel de provoquer des infections systémiques menaçant le pronostic vital (par exemple, les levures) (**Pfaller et Diekema, 2007**).

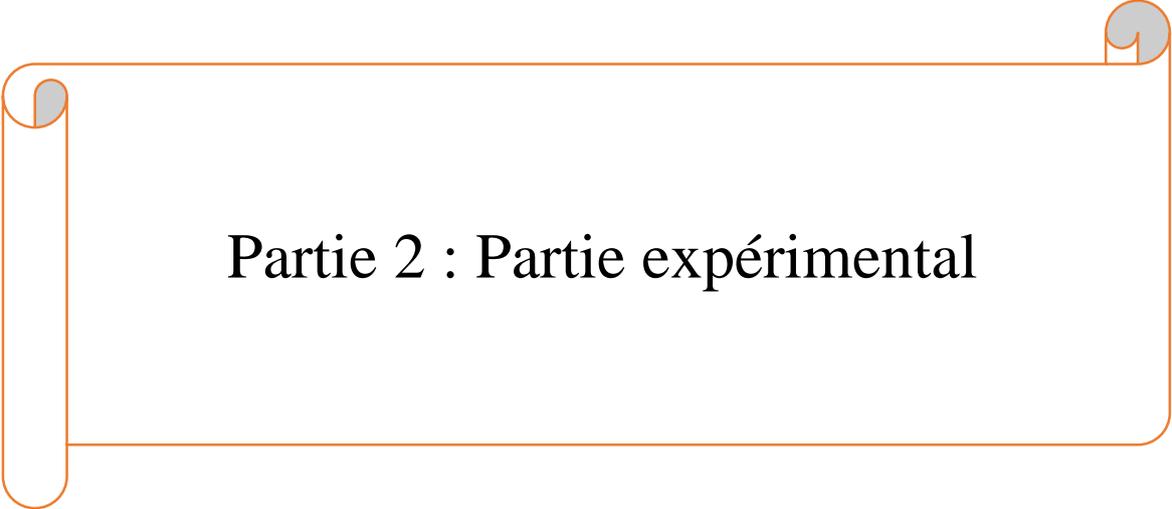


Chapitre 3 : Activités antifongique de l'extrait de feuilles d'oliviers

Activité antifongique de l'extrait de feuilles d'olivier :

La feuille d'olivier (*Olea europaea* L.) est connue pour être de nature résistante aux micro-organismes et aux attaques d'insectes, et de nombreuses recherches se sont concentrées sur l'activité antimicrobienne des composés contenus dans les olives et l'huile d'olive. Il a été démontré que les composés phénoliques, notamment l'oleuropéine, le tyrosol, l'hydroxytyrosol, l'acide caféique, l'acide gallique, l'acide syringique, l'acide p-coumarique et la lutéoline, isolés des olives et des feuilles, inhibent ou retardent la vitesse de croissance d'une gamme de les micro-organismes **(Lantaou Elaraki et al. 1983)**

De nombreuses études montrent qu'une des causes majeures des problèmes de santé les plus courants est l'infection par des parasites, des champignons et des levures. Ces organismes peuvent infecter presque toutes les zones du corps. Les champignons sont des survivants modifient leur croissance en fonction de leur environnement, mais ne peuvent pas surmonter un système immunitaire en santé. On les trouve fréquemment chez les patients atteints du sida, le cancer et le diabète, les athlètes, les personnes âgées, les personnes qui passent beaucoup de temps debout ou qui portent les mêmes chaussures jour après jour, ou qui portent des ongles artificiels. Les médicaments pris dans de nombreuses conditions diminuent la résistance et sont supposés rendre les personnes plus vulnérables aux infections. Les champignons peuvent infecter les matières mortes ; en outre ils peuvent aussi infecter des animaux vivants. Il a été démontré que la feuille d'olivier est efficace contre ces champignons. *Candida albicans*, *Candida krusei*, candidose orale en font partie. De plus, il est également efficace contre les cryptosporidies, les giardies, les oxyures, les ténias, la teigne, les protozoaires causant le paludisme et de nombreux autres. **(Khan et al, 2007).**



Partie 2 : Partie expérimental



Chapitre I : Matériels et Méthode

Ce travail est subdivisé principalement en deux étapes sont : La première étape concerne la préparation des extraits deuxième étape concerne l'étude d'activité antifongique des extraits obtenus par la méthode de diffuse en milieu gélose (méthode de disque).

- **Matériel et méthode :**

1. Matériel végétal

Notre étude a été réalisée sur les feuilles des sous-espèces d'oliviers : *Olea europaea* var. *Europeaea* (l'olivier domestique), Les feuilles sont cueillies à (wilaya de Mostaganem) mars 2021.



Figure 14 : *Olea europaea* cultivate

2. Préparation du matériel végétal :

2.1 Nettoyage et séchage :

Après la récolte, les feuilles fraîches ont été transportées au laboratoire puis nettoyées à l'eau pour enlever la poussière puis étalées et séchées sur un filet à l'air libre (à l'abri du soleil) et à température ambiante dans un endroit sec, ventilé et ombragé. Ensuite, ces feuilles a été séchée à 40°C dans un étuve, jusqu'à perte de 40% du poids.



Figure 15 : les feuilles d'oliviers cultivés avant et après séchage

2.2 Broyage et tamisage :

Les feuilles ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une poudre de feuilles séchées dans le but d'augmenter la surface d'échange entre le solide et le solvant d'extraction et à faciliter l'extraction. La poudre est tamisée (taille des particules est 0,2 mm); puis conservé a l'obscurité dans le réfrigérateur (4°C) jusqu'à l'utilisation.



Figure 15 :Photographie des poudres des feuilles obtenue après broyage.

- **Olives vertes et noires:**

Extraits sec des olives vertes et noires:

Les fruits ont été achetés au niveau de marché de la wilaya de Mostaganem .elle ont été lavées et desbrasses des noyaux coupés en petite morceaux et laisse sécher à l'étuve à 40°C.

3. les Souches étudiés :

Les champignons étudiés dans ce travail

Dans les tests d'activité antifongique on utilisé 5 souches fongiques référencées sont présentes ci-dessous

- *Saccharomyces cerevisiae*

Est un eucaryote unicellulaire, se présentant sous forme de cellules isolées, ovoïdes à arrondies, longues de 6 à 12 μm et larges de 6 à 8 μm . À l'état naturel, on retrouve *Saccharomyces cerevisiae* principalement sur les fruits comme les raisins et sur la grande majorité des écorces d'arbres (par exemple sur le [chêne](https://fr.m.wikipedia.org/wiki/Saccharomyces_cerevisiae) (https://fr.m.wikipedia.org/wiki/Saccharomyces_cerevisiae))

- *Candida oleophila* :

Est une espèce de levures du genre candida de la famille Saccharomyceetaceae on retrouve dans cerises sucrées pourries.

- **Saccharomyces uvarum :**

Saccharomyces uvarum est une forme moderne de levure bière. Après la fermentation, ce type de levure coule au fond de la cuve de fermentation, à partir de laquelle le nom de fond fermenter (Ferment en profondeur). Les fonds sont appelés dans le jargon « gourme » ou « bas-fonds ». La levure de bière blonde, contrairement à la levure fermenter top (A fermentation de surface), il faut une température ambiante basse (4-9 ° C) pour la fermentation. Merci à cette fonctionnalité, nous assistons à une prolifération des mineurs champignons et microbes, obtenant ainsi une bière à plus long stockage. Pour la bière lager de fermentation basse, il est également nécessaire dans une fermentation et un temps de durcissement plus.

- **Kloeckera apiculata**

C'est un hemiascomycetes, de l'ordre des Endomycetales de la familles des Endomyctaece dont la from parfaite, est un levure ascospore à bourgeonnement bipolaire apicule. Isolés chez les insectes et sur les fruits <http://coproweb.free.fr/mycoweb/texte/168.htm>.

- **Schizosaccharomyces pombe**

Appartient à la classe des champignons ascomycètes. C'est un organisme unicellulaire eucaryote, dont les cellules sont cylindriques. Ces cellules mesurent généralement 7 à 14 micromètres de longueur et 4 de largeur. On la trouve sur les raisins et dans les mélanges de fermentation.

https://fr.m.wikipedia.org/wiki/Schizosaccharomyces_pombe#:~:text=Schizosaccharomyces%20pombe%20appartient%20%C3%A0%20la,cellules%20filles%20de%20taille%20identiq.

- Schizosaccharomyces pombe
- Saccharomyces uvarum
- Candida oleophila
- Kloeckera apiculata
- Saccharomyces cerevisiae

4.Produit chimique :

- L'eau distillée
- l'eau physiologie
- éthanol
- Acétone
- Éthyle acétate

5. Petite matériel et verrière :

- Tubes à essais
- Tubes sec
- Bêcher
- Boite de pétri
- Pipettes pasteur
- Eupouervte
- Fiole jaugée
- Entonnoir
- Ecouvillon stérile

6. Appareillage :

- Agitateur magnétique
- Autoclave
- Baine marié
- Balance de précision
- Étuve
- Incubateur à 37°C
- Incubateur à 25°C
- Micropipette
- Thermomètre
- Plaque chauffant
- Spectrophotomètres
- Soxhlet
- Réfrigérateur
- Evaporateur.
- Bec benzène

7. Milieux de culture :

Le milieu Sabouraud dextrose agar SDA à été utilisé comme un milieu de culture pour le repiquage et l'antifongIgramme des souches fongiques

Le milieu de culture PDA

2.Méthode :

✓ Préparation des extraits aqueux et solvants :

Les extraits végétaux aqueux et par solvant n'ont servi que les études d'activité antifongique.

2.1Extraits aqueux les feuilles d'oliviers et les olives vertes et noires :

20 g de poudre d'olivier cultivé est versées dans 200 ml d'eau d'eau bouillante dans une plaque chauffante équipé d'un agitateur magnétique on le laisse 30 min avec agitation automatique le mélange est ensuite filtré avec un papier filtre.

Les étapes des extractions sont résumées Dans le schéma suivant :

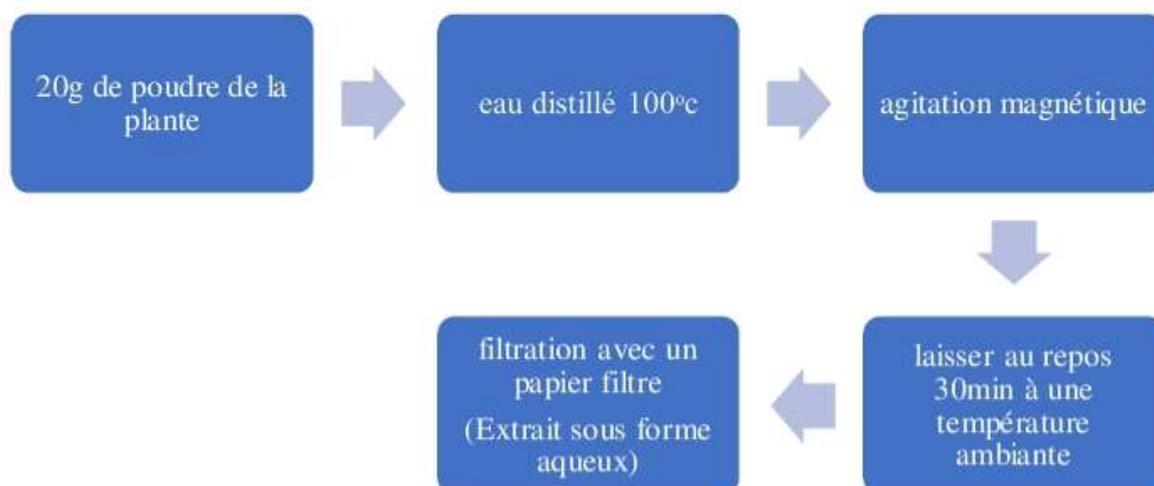


Figure 16 :Schéma de protocole de préparation des extraits aqueux

2.2Extraction

2.2.1Principe

Elle consiste à faire passer, par solubilisation la poudre de la plante étudiée dans un solvant. Celui-ci peut être de l'eau ou d'autres solvants organiques comme: le (méthanol, l'éthanol,, acétate d'éthyle, acétone et eau) etc. Elle peut se faire directement par le solvant d'extraction ou faisant intervenir d'abord l'eau, on fait alors agir le solvant sur une décoction une infusion ou une macération. (Bégin et Gérin 2002)

2.2.2 Méthode

L'extraction est réalisée à l'aide d'un extracteur soxhlet, 10 g de poudre des feuilles de l'olivier (cultivé) sont introduits dans une cartouche poreuse prévue à cet effet puis on ajoute 200ml du solvant (méthanol, éthanol, acétate d'éthyle, acétone et eau) dans le ballon. On Place l'extracteur et la cartouche contenant la poudre sur le ballon avec fixation du réfrigérant à eau sur

l'extracteur finalement on allume le système du chauffage et d'agitation, avec l'extracteur est la chambre d'extraction et le ballon est la chambre de stockage. Après 8 cycles (5 heures) on obtient la phase organique qui contient les composés extraits. Elimination du solvant par évaporateur rotative à 60°C pendant 30min et à pression réduite pour diminuer la température d'ébullition et d'évaporer plus vite le solvant. Récupération de l'extrait avec 10ml du méthanol. L'extrait est conservé dans un réfrigérateur 2-8°C jusqu'à son utilisation

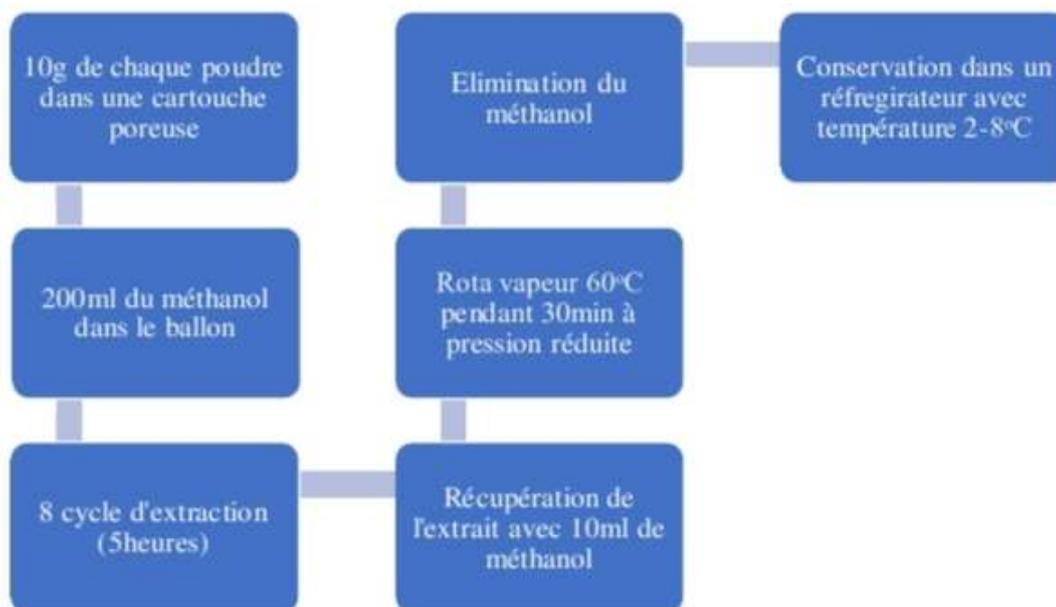


Figure 17:Schéma de protocole de préparation des extractions

3.Rendement de l'extraction des feuilles d'olivier

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation de solvant, il est exprimé en pourcentage (%) par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction.

Le rendement d'extraction est calculé par la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{M}{M_0} * 100 - R(\%)$$

-Rendement exprimé en %.

-M : Masse en gramme de l'extrait sec résultant.

-M₀ : Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

4.L'étude l'activité antifongique :

✓ Préparation des micro-organismes d'essai :

Les échantillons ont été inoculés dans un milieu de culture PDA. La croissance bactérienne est inhibée par l'addition de Gentamycine après leur stérilisation à une concentration de (1 mL/L),

11 mL de chaque dilution. L'incubation a été réalisée dans une étuve à 30 ± 2 °C pour les milieux solides. Les champignons ont été cultivés aussi à 30 °C dans des tubes et des boîtes de Pétri sur SDA (Yesilada et al., 1998).

✓ **Méthode de diffusion direct :**

L'évolution de l'activité antifongique a été effectuée par la méthode de diffusion sur gélose en utilise les souches pour cela à partir d' une culture pure de 72 h sur de milieu de gélose (gélose sabouraud) quelques colonies bien isolées sont récupérées à l'aide de l'anse de platine et ensemencé dans 10 ml d'eau physiologique stérile, afin d'obtenir une densité optique de l'ordre de 0,08 à 0,1.

✓ **L'ensemencement et incubation :**

Le prélèvement se fait avec un écouvillon stérile qui est trempé dans la suspension fongiques puis essoré sur la paroi interne du tube à essais, l'ensemencement est effectué en striés serrés, sur gélose Sabouraud de haut en bas puis l'opération est répétée 2 fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, l'écouvillon est passée sur la périphérie de la gélose pour finir l'ensemencement Par ailleurs, des disques de papier waltman de 6 mm de diamètre, sont imprégnés de 20 ul d'extraits des feuilles par disques, ces disques imprégnés sont déposés sur la surface de la gélose préalablement inoculé.

Dans chaque boîte de pétri ,deux disques imprégnés d'extraits des feuilles sont déposés les boîtes de pétri sont incubés à 25°C pendant 72 heures.

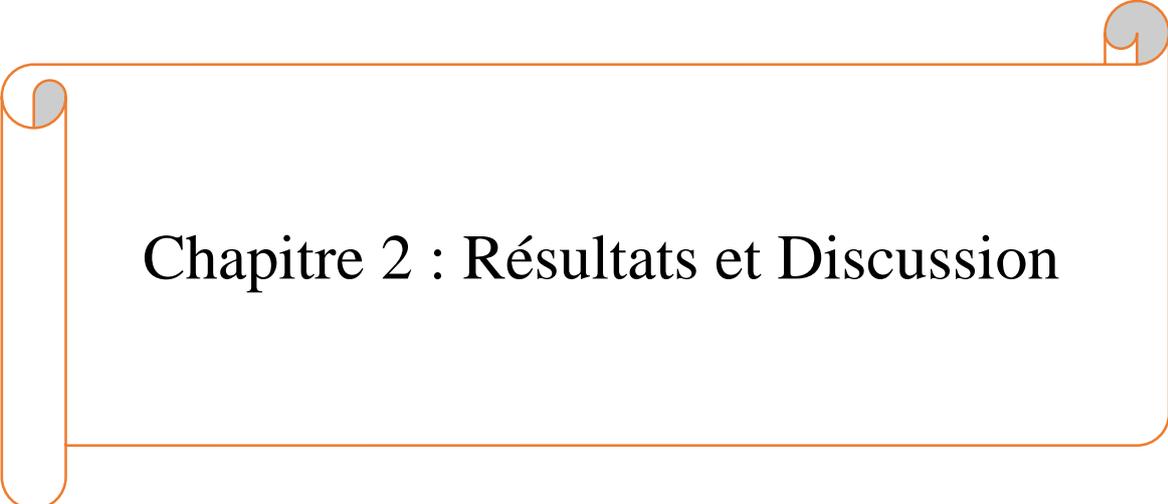
Après incubation, le diamètre d'inhibition autour des disques est mesuré et les valeurs sont exprimées en mm

L'activité antifongique est appréciée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition.

5.Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :

Les déterminations MIC et MFC ont été mesurées selon les méthodes décrites par **Yin et Tsao, 1999 ; Rasooli et Abyaneh, 2004 ; Sahin et al., 2004**. L'extrait de feuille a été dilué avec les mêmes solvants pour produire des dilutions en série de deux fois allant de 10 à 2000 µg partir de chaque solution préparée, 1 ml a été ajouté dans des tubes à essai contenant 5 ml de bouillon d'extrait de malt. Des suspensions de levures (1 ml) préparées à partir de cultures de bouillon d'extrait de malt de 24 h et ajustées à une turbidité McFarland de 0,5, ont été ajoutées aux tubes contenant des extraits de feuilles d'olivier ou le solvant utilisé comme contrôle. Les tubes à essai ont ensuite été incubés à 30 °C pendant 48 h. La CMI des extraits d'essai était la plus faible

concentration d'extraits qui n'a permis aucune turbidité des tubes à essai. La MFC a été déterminée en cultivant 0,2 ml du bouillon de culture mélangé de tous les tubes dépourvus de turbidité visible dans le test MIC sur des plaques de gélose à l'extrait de malt à 30 °C pendant 48 h (**Portillo et al., 2005**). Le MFC a été défini comme les concentrations les plus faibles qui inhibent complètement la croissance des levures.



Chapitre 2 : Résultats et Discussion

Résultat et discussion

1. L'étude Détermination des diamètres des zones d'inhibition

L'étude de l'activité antifongique à été réalisée en testant les fractions aqueux et des solvants extrait des feuilles des oliviers vis-à-vis de les souches testées résultats sont indiqués en diamètres en zones d'inhibition ,représentant le grandeur du halo forme par les levures dont la croissance est inhibé par les extraits étudiés

Tableau 7 :Détermination des diamètres des zones d'inhibition en (mm) de les souches présence des extraits étudiés.

Souche	Fraction	Diamètre (mm)
Saccharomyces cerevisiae	Aqueux	<2
	éthanol,	3,0=2,17
	acétate d'éthyle	Nd
	acétone	ND
Saccharomyces uvarum	Aqueux	<3
	éthanol	2,3=0,23
	acétate d'éthyle	9,3=0,18
	acétone	8,8=0,36
Kloeckera apiculata	Aqueux	<2
	éthanol,	5,3=0,56
	acétate d'éthyle	4,8=0,77
	, acétone	1,5=0,46
Candida oleophila	Aqueux	<2
	éthanol,	2,3=1,33
	acétate d'éthyle	9,0=2,29
	acétone	0,8=0,39
Schizosaccharomyces	Aqueux	<2
	Éthanol	2,3=1,42
	Acétate d'éthyle	5,3=0,67
	, acétone	2,0=0.87

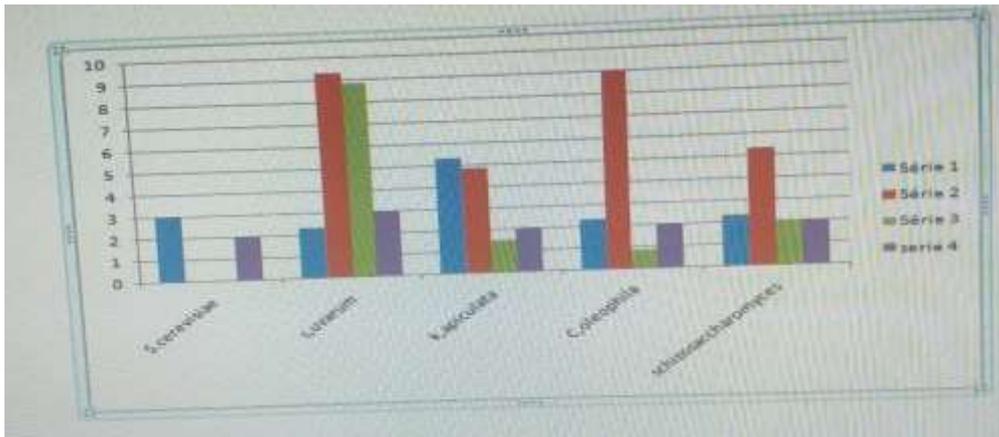


Figure 18 : les différents des zones d’inhibition obtenu avec les différents extraits S1, S2, S3 S4 pour les différentes souches fongiques testées.

→ Il ressort à travers l’observation des zones inhibition répertoriées dans la figure que les zones d’inhibition les plus importants sont observées avec Uvarum et Oleophila.

J’ai noté que *S. cerevisi* est résistance à acétone et acétate d’éthyle.

On comparant l’activité des extraits S1, S2, S3 et S4 on remarquera que les extraits S2 a une activité plus efficace que l’extrait S1, S3, S4 sur *S. uvarum* et *Oleophila* et *k. apiculata* et *Schizosaccharomyces* sauf *S. cerevisi*, cela avéré que la nature solvant influence sur l’efficacité de l’activités antifongique

Tandis que *S. uvarum* présente une sensibilité plus importante vis-à-vis de S2 on effet le diamètre d’inhibition correspond à une valeur de $(9,3= 0,18)$ alors que l’extrait S1 le diamètre d’inhibition correspond une valeur de $(2,3=0,23)$. Cette observation est valide par notre statistique qui conclu qu’il existe une différence significations entre S1, S2, S3, et S4.

Concerne les extraits des feuilles des oliviers les fraction éthanol et a acétate d’éthyle et acétone semble plus active par la fraction aqueux plusieurs études ont démontré Que l’oleuprine est un des composants phénoliques des feuilles d’oliviers ayant des propriétés antibactériennes

les levures ont montré divers degrés de sensibilité antifongique à l’acétone, à l’alcool éthylique, aux extraits d’acétate d’éthyle de feuilles d’olivier, à l’exception de l’extrait aqueux qui n’a montré aucun effet inhibiteur sur les levures testées. On pourrait expliquer que l’eau résolvait faiblement les composés phénoliques, fraction non polaire, dans la feuille d’olivier.

Tableau 8 :détermination des diamètres des zones d'inhibition en mm des olives noires et vertes.

Extraits	Fraction	Diamètre(mm)
Olives vertes	Aqueux	<6
	Solvant	<6
Olives noires	Aqueux	<6
	Solvant	<6

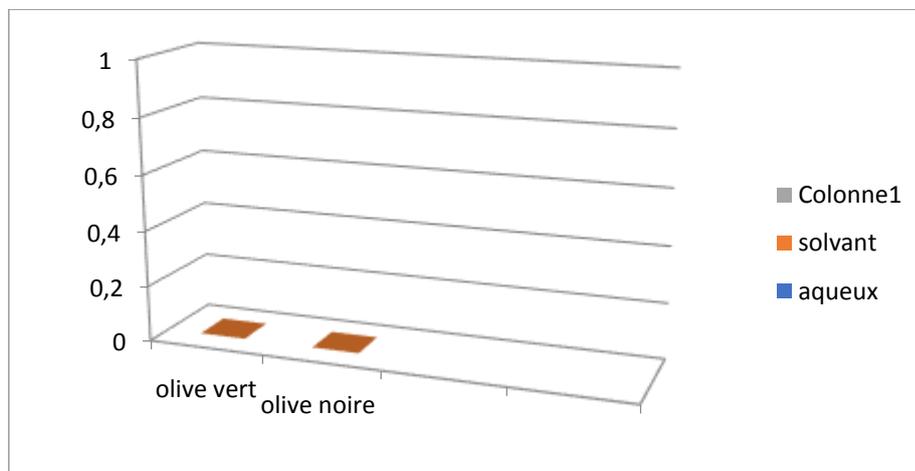


Figure19 : les zones d'inhibition pour l'olive vert et noire

→Les souches ont montré une résistance à tous les extraits aqueux et les extraits éthanol, acétate d'éthyle et acétone des olives vertes et noires, ceci est peut-être dû au fait que les fruits utilisés ne sont pas frais, en effet, les fruits utilisés ont été achetés.

Ces derniers subissent des traitements au cours de leur préparation qui peut influencer la composition chimique particulièrement, en composés oleuropéine composants principales des fruits d'oliviers. (VALESCO et DOBARGANTES 2002)

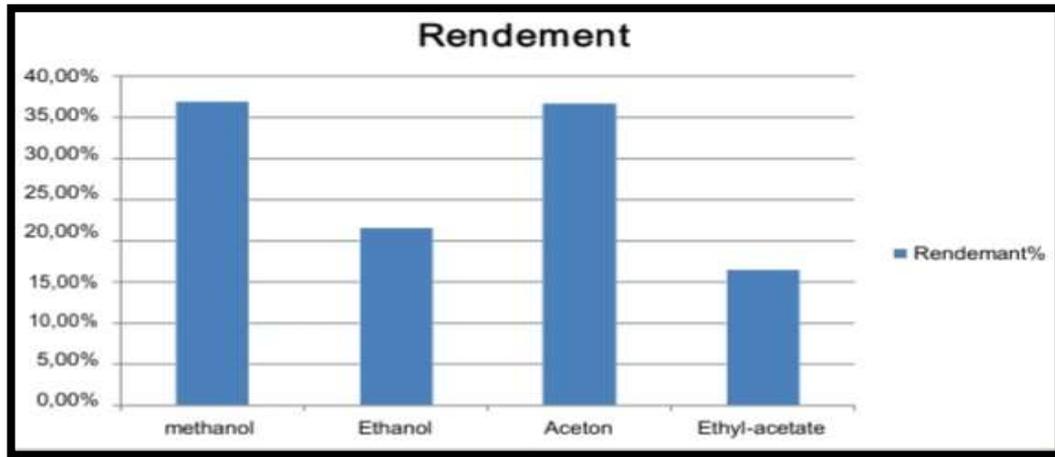
Selon valesco et Dobargantes 2002, la modification de quelques composés chimiques oleuropéine peut être à plusieurs facteurs dont :

- Les variétés de l'olivier
- L'âge d'olivier
- Les conditions pédologique
- La technique d'extraction
- La technique de traitement

2. Rendement :

L'extraction du broyat des feuilles séchées de l'olivier par les 5 solvants a permis d'obtenir des extraits riches en différents composants biochimiques. Les rendements des extraits sont reportés en pourcentage dans la figure

Figure 20 : Rendement d'extraction des feuilles par les quatre types des solvants



→ L'analyse de la figure montre que les rendements d'extraction varient en fonction du solvant; Les résultats obtenus révèlent que le rendement de méthanol (36.93%) est très proche que celui obtenu par l'acétone (36.67%). Alors ces derniers sont nettement supérieurs à celui d'éthanol (21.63%) et de éthyle-acétate avec (16.46%) qui vient en dernier lieu.

Traitement la concentration minimale inhibitrice CMI :

Les activités antimicrobiennes des extraits de feuilles d'olivier (éthanol, acétate d'éthyle, acétone et eau) contre les levures testées et leur puissance ont été évaluées quantitativement par la présence ou l'absence de CMI.

Tableau 9:détermination la concentration minimale inhibitrice pour les extraits :

Souche	Solvant	CMI
Saccharomyces cerevisiae	éthanol,	24=2,94
	acétate d'éthyle	Nd
	acétone	Nd
Saccharomyces uvarum	éthanol,	23 =1.41
	acétate d'éthyle	12=0,81
	acétone	13=2,16
Kloeckera apiculata	éthanol,	16=1,82
	acétate d'éthyle	20=2,44
	acétone	10=1,41
Candida oleophila	éthanol,	23=1,82
	acétate d'éthyle	12=2,44
	acétone	28=1,82
Schizosaccharomyce	éthanol,	23=1,41
	acétate d'éthyle	16=0,81
	acétone	23=2,58

3. Etude des concentrations minimales inhibitrices CMI :

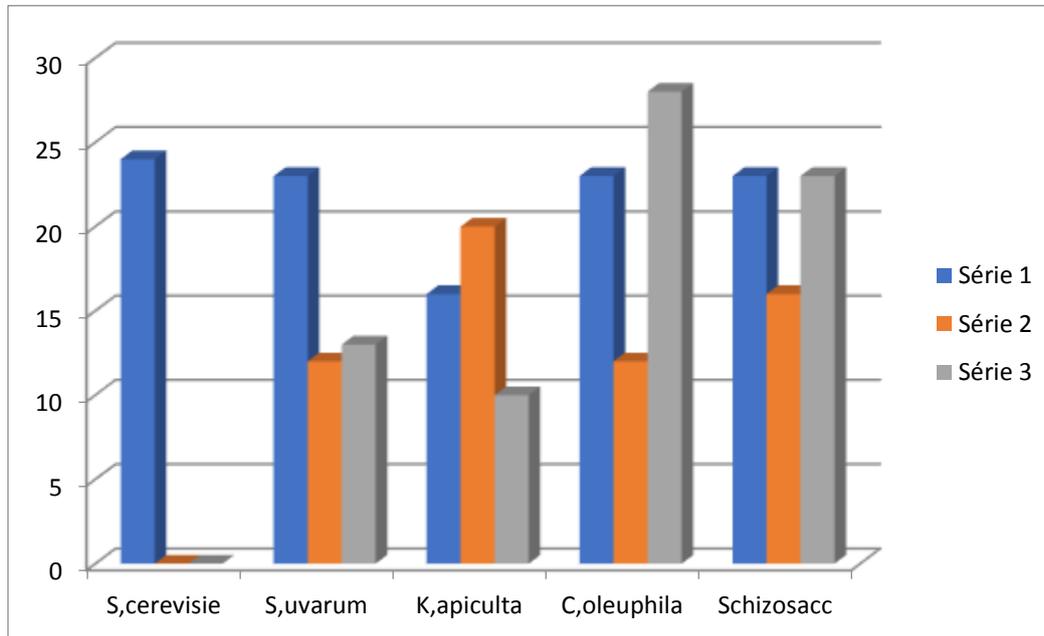


Figure 21 : Représentation graphique des valeurs CMI sur les souches avec les trois extraits pour les souches fongiques.

→ Selon les résultats illustrés, les concentrations minimales inhibitrices les plus importantes sont observées avec *S.uvarum* et *C.oleophila* et *Schizosaccharomyces*. J'ai noté aussi que *S.cerevisiae* est résistante par acétone et acétate d'éthyle.

Le tableau montre les résultats pour les extraits d'acétone se sont révélés les plus efficaces contre *Saccharomyces uvarum* et *Candida oleophila* et *k.apiculata* selon la valeur CMI, les résultats ont été soutenus par les caractéristiques chimiques d'extraits de feuilles d'oliviers. Selon l'analyse chimique, l'extrait d'acétone était le solvant le plus efficace pour dissoudre le contenu phénolique dicarboxylique de la feuille d'olive.

Dans notre observation, aucun des extraits n'a d'activité antifongique contre *S. cerevisiae*, à l'exception de l'éthanol.

L'extrait d'éthanol a généralement indiqué une faible action inhibitrice contre la levure utilisée ($p < 0,05$). Cependant, cet extrait a été trouvé le plus efficace contre *k.apiculata* avec 10 µg/ml de MIC suivi de *S.uvarum*, *Pombe* et *C.oleophila* avec 13, 15, 23 et 28 µg/ml, respectivement.

Saccharomyces cerevisiae à démontrer une résistance plus élevée que les autres levures d'essai tandis que *C.oleophila* et *Pombe* étaient les micro-organismes les plus sensibles ($p < 0,05$).

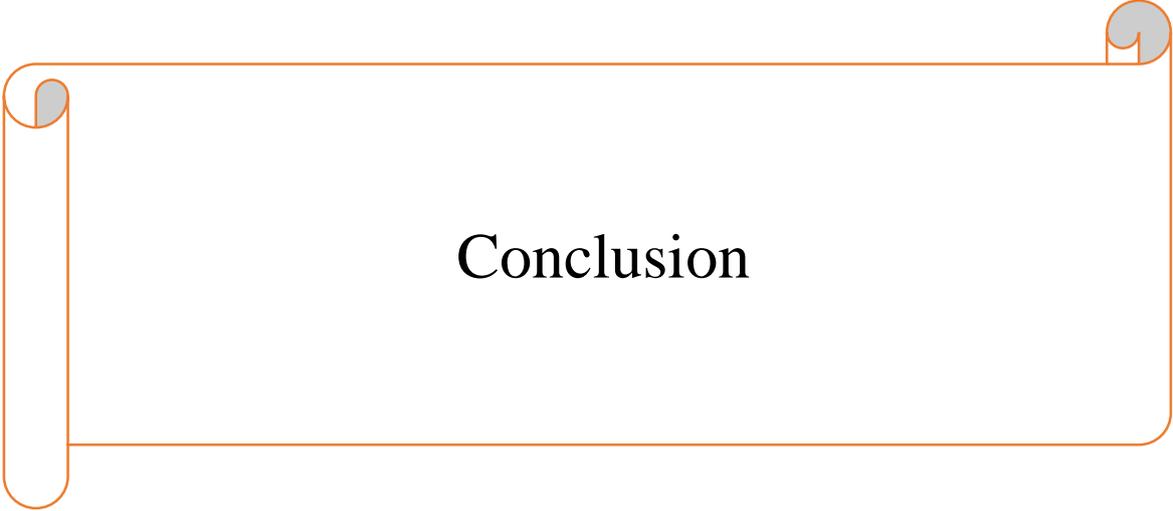
Des études antérieures suggèrent que les polyphénols dans l'olive ont propriété antimicrobiennes (**Le Tuteur et Guedon, 1992, Soler- Rivas et al., 2000**).

→ L'effet de l'oleuropéine présente en haute quantité dans les feuilles d'oliviers, à été étudiée sur ses propriétés antifongiques activées contre *Rhodotorula est*, *C.albicans* et *Cerevisiae* et aucun effet inhibiteur contre ces levures ont été observés.

D'autres travaux ont démontré l'effet fongicide d'un certain nombre de composés extraits de feuilles d'oliviers sur quelques espèces de champignons tels que les travaux par M. **KORUKLUOGLU1, Y. SAHAN and A. YIGIT** qui ont testé. Des extraits de feuilles d'olivier (*Olea europaea* L.) ont été obtenus en utilisant de l'eau ou différents solvants organiques tels que l'acétone, le méthanol et l'acétate d'éthyle. Les activités antimicrobiennes des extraits et de certains composants phénoliques ont été étudiées pour cribler contre 30 souches fongiques (*Alternaria alternata*, *Aspergillus chevalieri*, *A. chrysogenum*, *A. elegans*, *A. flavus* [trois souches], *A. fumigatus*, *A. nidulans*, *A. niger* [deux souches], *A. oryzae*, *A. parasiticus* [quatre souches], *A. tamari*, *P. verrucosum*, *A. versicolor*, *A. goneii*, *Fusarium oxysporum*, *F. semitectum*, *Mucor racemosus*, *Neurospora crassa*, *Penicillium citrinum*, *P. echinulatum*, *P. griseofulvum*, *P. italicum*, *P. roqueforti* et *Rhizopus oligosporus*) en utilisant la méthode de diffusion discale. Dans cette étude, en termes d'activité d'inhibition, il a été déterminé que l'extrait aqueux était le meilleur car il inhibait complètement la croissance de 10 moisissures, suivi par les extraits d'acétone et de méthanol, qui étaient efficaces contre huit moisissures, et l'extrait d'éther d'éthylques, qui était efficace contre 7 des 30 champignons testés. Les zones d'inhibition variaient de 7 à 21 mm. En comparant la sensibilité des champignons avec tous les extraits bruts de feuilles d'olivier et les composés phénoliques purs, nous avons constaté que *A. parasiticus*(4) était la souche la plus résistante tandis qu'*A. goneii* était la plus sensibles et on compare avec les résultats de ce travail.

Nos résultats démontrent que les extraits obtenus à l'aide de divers solvants ont des effets différents sur la croissance des levures, qui peuvent provoquer une détérioration des aliments ou sont utilisés dans l'industrie alimentaire. La résistance antifongique peut dépendre du genre, de l'espèce, de la souche et de la source d'isolement, ainsi que des composants actifs des extraits de feuilles. Les solvants utilisés dans les extraits, les cultivars d'olives, l'origine de la culture, le moment de la récolte et le climat peuvent tous influencer la composition des feuilles et par conséquent affecter les propriétés antifongiques. Les résultats suggèrent que des études

similaires sur l'extrait de feuille d'olivier, en tant que conservateur naturel, pourraient être une alternative aux substances antimicrobiennes synthétiques dans diverses industries. Par conséquent, les extraits bruts obtenus dans les expériences futures devraient être choisis et évalués en fonction de leurs composés antimicrobiens.



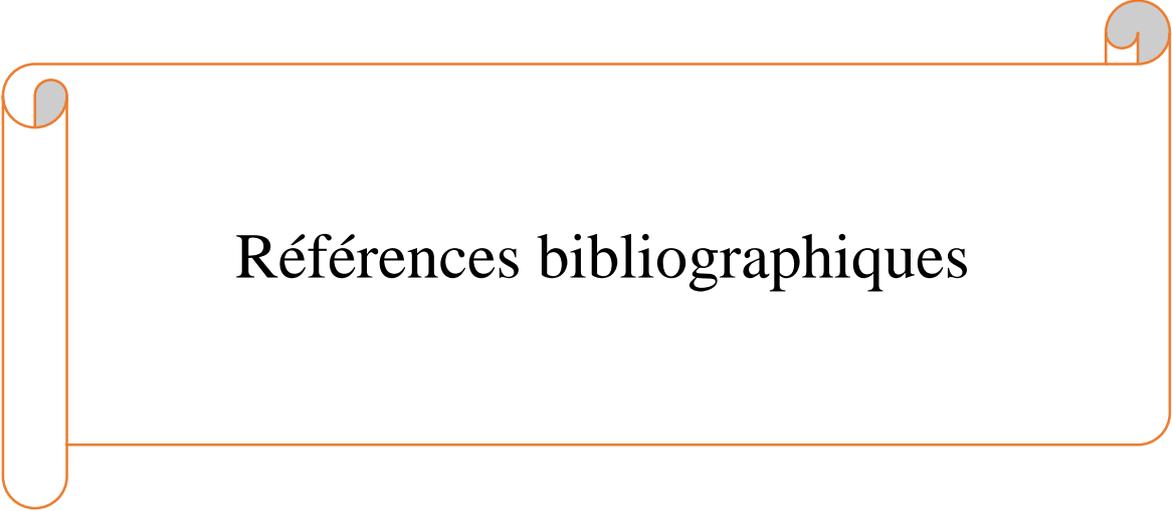
Conclusion

Conclusion :

De nos jours, un grand nombre de plantes médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacologie, cosmétologie et l'agriculture. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et d'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme.

Le présent travail est axé sur les valeurs des concentrations minimale inhibitrice sur l'évaluer de l'activité antifongiques l'extrait aqueux et l'extrait par solvant obtenu par macération à partir des feuilles d'olivier.

Les activités antifongiques de ces extraits ont été testés par le test de diffusion sur disque, la concentration minimale inhibitrice CMI tous les extraits ont montré divers degrés d'effets antifongique avec 10-28 $\mu\text{g}/\text{mL}$ et valeurs de zone d'inhibition de 1.5-9,3mm contre les levures utilisées Expets l'eau. Les résultats ont indiqué que les levures testées étaient sensibles aux extraits d'acétone et d'acétate d'éthyle. Il a été déterminé que *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 était la plus résistante parmi les levures

A decorative border in a light orange color, shaped like a scroll. It has rounded corners and a vertical strip on the left side that extends downwards. The text is centered within the main rectangular part of the scroll.

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

- **ALITOK, E BAYCIN D,BAYRAKTAR O, et ULKU S,2008.**isolation of polyphénols from the extract of olive leaf (*Olea europea*) by absorption on silk fibrine 62(2):342-348
- **ANDRÉ BELOT ,JACQUES BROUSSE 2004 ,**”Tout savoir sur les arbres et les arbustes 161.162
- **ANDRÉ BELOT, JACQUES BROUSSE, 2004,**”Tout savoir sur les arbres et les arbustes 161.162
- **ARAQAS H,2013** extraction des composants phénoliques de feuilles d’oliviers et étude De leur activité biologique ,Mémoire d’obtention du master CMBA université sidi Mohamed ben Abdellah .PST FES :3,4.
- **-Argenson C., Régis S., Jourdain J. M., Vaysse P. (1999).** L'olivier. Ed. Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes. 204.
- **-Arab K., Bouchenak O ., Yahhiaoui K . 2013** Évaluation de l’activité biologique des feuilles de l’olivier sauvage et cultivé Afrique SCIENCE, 2013. Vol 09 p 159-166.
- **Benhayoun G. et Lazzeri Y (2007)** L'olivier en Méditerranée : du symbole à l'économie. Editions L'Harmattan. Paris, - p137. PP17.
- **BISGNANO G ,TOMAINO A,1999**On the in vitro Antimicrobial activity Of oleuropein and hydroxyde .pharm. pharmcol vol 51 4-914
- **Beta, T., Nam, S., Dexter, J.E. Sapirstein, H.D., (2005).** Phenolic Content and antioxydant activity of Pearled Wheat and Roller-Milled fractions. Cereal Chem., 82(4), 390-393.
- **Bruneton, J., (1993).** Pharmacognosie. Technique et documentation-Lavoisier, Paris, p.278.
- **Balmont R ,Bussler ,L JAUBERT J P 2015** l’olivier 3
- **-Boudhrioua, N., Bahloul,N., Ben Slimen, I., Kechaou, N. 2009.** Comparaison on the total phénol contentant the color of fresh and infrared dried olive leaves. industrial crops and products, Vol 29, p 412– 419.
- **-Boukhari R. (2014).** Contribution à l’analyse génétique et caractérisation de quelques variétés d’olivier et l’influence de l’environnement sur leurs rendements au niveau de la wilaya de Tizi-Ouzou ; université Tlemcen. Ingénieur en Agronomie.p9

- **BOTSOGLOU E., GOVARIS A., CHRISTAKI E. AND BOTSOGLOU N.)2010**(. Effect of dietary olive leaves and/or a-tocopheryl acetate supplementations on microbial growth and lipide oxydations of turkey breast filets during refrigerated storage. Food Chemistry,)121(: 17-22.
- **BOUAZIZ M. AND SAYADI S.)2003**(. Hight yield extraction of oleuropein from chemlali olives and leaves and bioconversion to hydroxytyrosol. Polyphénols actualités,) 23(: 11-15.
- **BOUAZIZ M., FKI I., JEMAI H., AYADI M. AND SAYADI, S.)2008**(. Effect of storage on refined and husk olive oils composition: Stabilisation by addition of natural antioxidants from chemlali olive leaves. Food Chemistry,)108(: 253-262.
- **Boudih S. 2011**. Identification des moisissures et de leurs métabolites secondaires colonisant des supports papiers: évaluation de la toxicite sur des cellules _épithéliales respiratoires in vitro. Sciences agricoles Thèse de doctorat. Université de Paris Est. France. 2
- **Catherine R., Roger C., 2005**. Stratégies alternatives et agriculteur durable .in enjeux phytosanitaires pour l’agriculteur et l’environnement, Lavoisier, Paris, 644p.
- Chabasse D., Bouchara J-P ; De gentile L., Brun S., Cimmon B., Penn P.2002. Cahier de formation les moisissures d’intérêt médicale.
- **-De Lucas A., Martinez de la Ossa E., Rincón J., Blanco M.A. and Gracia I. (2002)**. Supercritical fluid extraction of tocopherol concentrates from olive tree leaves. The Journal of Supercritical Fluids 3, 221-228.
- **-Delgado-Pertinez M., Gomez-Cabrera A. and Garrido A. (2000)**. Predicting the nutritive value of the olive leaf (*Olea europaea*): digestibility and chemical composition and in vitro studies. Animal Feed Science and Technology 87,187-20.
- **-Frag R.S., Mahmoud E.A. and Basuny A.M. (2007)**. Use crude olive leaf juice as a natural antioxidant for the stability of sunflower oil during heating. International Journal of Food Science & Technology 42,107-115
- Fylaktakidou, K.C., Hadjipavlou-Litina, D.J., Litinas, K.E., Nicolaidis, D.N., (2004). Natural and synthetic coumarin derivatives with anti-inflammatory/ antioxidant activities. Curr. Pharm. Des. 10 (30), 3813-3833.
- **Ghedira, K. (2008)**. L’olivier. Journal de la Phytothérapie, vol. 6, p. 83–89

- **-Georges J. Aillaud. (1985).** L'olivier et l'huile d'olive, le point de vue des botanistes-Institut de recherches et d'études sur le monde arabe et musulman.
- **-Guignard J., Dupont F. (2004).** Systématique moléculaire. Botanique : la famille des plantes. Editions Masson, Paris, France. 336.
- **-Giao M.S., Gonzalez-Sanjose M.L., Rivero-Perez M.D., Pereira C.I., Pintado M.E. and Malcata F.X. (2007).** Infusions of Portuguese medicinal plants: Dependence of final antioxidant capacity and phenol content on extraction features. *Journal of Science Food & Agriculture* 87,2638-2647.
- **Ghorri S. (2015).** Isolement des microorganismes possédant une activité anti-Fusarium. Thèse de Doctorat, Université frères Mentouri. Pp 154 .
- **Guiraud J. P.(1998).** Microbiologie alimentaire. Dunod, Paris. p : 310-321
- **Harborne, J. B., Simmonds, N. W., (1964).** Biochemistry of Phenolic Compounds, Academic Press, London, pp. 101.
- **-Jemai H., Bouaziz M., Fki I., El Feki A., Sayadi S. 2008.** Hypolipidimic and antioxidant activities of oleuropein and its hydrolysis derivative-rich extracts from Chemlali olive leaves. *Chemico-biological interactions*, 2008.Vol 176, p 88-89-98.
- **Karakaya, S., (2004).** Bioavailability of phenolic compounds. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 44 (6), 453- 64.
- **-Khan Y, Siddharth P, Niraj V, Ameer B, Vimal K 2007.** *Olea europaea* : A Phyto Pharmacologiques Review, *Pharmacol Rev* 2007.Vol 1, p 114-118. 6
- **Korukluoglu M., Sahan Y., Yigit A., Tumay Ozer E., Gucer S. (2004).** In vitro antibacterial activity of olive leaf (*Olea europaea* L.) extracts and their chemical characterization. KusadasI-Aydin, 4th Aegean Analytical Chemistry Days, Turkey.
- **Lazzeri Y. (2009) .**Les défis de la mondialisation pour l'oléiculture méditerranéenne, L'olivier en Médite rangée. In Conférence Centre Culturel Français de Tlemcen-Algérie. 1–24.
- **Lalas,S., Athanasiadis,V.Gortzi ,O., Bounitsi,M., Giovanoudis,I,Tsaknis,J., Bogiatzis,F. 2011.**Enrichment of table olives with polyphenols extracted from olive leaves. *Food Chemistry*,vol.127,pp.1521–1525. - Lee,
- **-Loussert R. Et Brousse C. (1978).** Contribution à l'étude de l'oléiculture dans les zones arides : Cas de l'exploitation de Dhaouia (Wilaya d 'El -Oued).Mémoire d'Ingénieur d'Etat en Agronomie Saharienne. Université Kasdi Merbah-Ouargla.77p

- **-Loussert R. et Brousse G. (1978)** .L'olivier, techniques agricoles et production méditerranéenne 58, 62-77,128-136.
- **Leong, L.P., Shui, G. (2002)**. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. Food Chem. 76, 69-75.
- **Lecellier A. (2013)**. Caractérisation et identification des champignons filamenteux par spectroscopie vibrationnelle. THESE Pp. 196 Université de Reims Champagne-Ardenne ; Ecole doctorale sciences technologie sante
- **Le Tutour B., Guedon D. (1992)**. Antioxydative activities of *Olea europaea* leaves and related phenolic compounds. Phyto- chemistry, 31: 173-1178. Lo
- **MPIANA PT, BALANGANAYI EK, KANANGILA AB, KALONDA EM, NGBOLUA KN, TSHIBANGU DST, ATIBU EK, LUMBU JBS.)2009**(. Activité antirépanocytaire et thermodégradation des anthocyanes extraits de *Sterculia quinqueloba* et *Ficus capensis*. Int. J. Biol. Chem. Sci., 3(3): 551-560.
<http://ajol.info/index.php/ijbcs>
- **Max L,2004**.L'olivier et la préparation des olives en Provence 10 p
- **-Martin-Garcia, I., Yanez Ruiz, D., Moumen, A., Molina Alcalde, E., 2006**. Effect of polyethylene glycol, urea and sunflower meal on olive (*Olea europaea* var. *europaea*) leaf fermentation in continuous fermentors. Small Ruminant Research,2006. Vol 61, p 53-61.
- **Mylonaki, S., Kiassos, E., Makris, D.P., Kefalas, P., (2008)**. Optimisation of the extraction of olive (*Olea europaea*) leaf phenolics using water/ethanol-based solvent systems and response surface methodology. Anal. Bioanal. Chem., 392(5), 977-985
- **NEFZAOUI A.)1995**(.Feeding value of Mediterranean ruminant feed resources. Advanced course. Syria 12-23 March 1995.
- **Najjar A. (2010)**. Étude quantitative de la sécrétion de lipase, de la lipolyse et du stockage de lipides chez *Yarrowia lipolytica* lors de sa croissance en présence d'huile d'olive. Thèse de doctorat. Université de la méditerranée (AIX-MARSEILLE II),Pp 168.
- **OROZCO-SOLANO M., RUIZ-JIMÉNEZ J. AND LUQUE DE CASTRO M.D.)2010**(.Ultrasound-assisted extraction and derivatization of sterols and fatty alcohols from olive leaves and drupes prior to determination by gas chromatography–tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 1217: 1227-1235.

- **Robards K., Prenzler P.D., Tucker G., Swatsitang P. Glover W., (1999).** Phenolic compounds and their role in oxydatives processes in fruits. Food Chemistry, 66, 401-436.
- **-Sahli A., Mekersi S., 2005.** Produits de terroirs Méditerranéens. FemiseResearch 22-35. Montpellier, France,2005 pp. 107-143.
- **Tabuc C. (2007).** Flore fongique de differents substrats et conditions optimales de production Des mycotoxines. Thèse de doctorat. UPSP de Mycotoxicologie, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. Pp 190.
- **TADASHI U.)2006(.**Antiaging food compositions containing collagen, and their manufacture Patent written in Japanese.Application: JP 2006191845 A 20060727, 7 pp. —
- **TALHAOUI N., TAAMALLI A., GOMEZ-CARAVACA A. M., FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ A. and SeguraCarretero A.)2015(.** Phenolic compounds in olive leaves: Analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits. Food Research International,) 77(: 92–108.
- **YUHONG L., QINGSHENG L., HUIQING K., CHEN Z., XIONG L., QIUYAN L. AND MEILING L.)2006(.**Study on using microwave to extract flavonoid antioxidants from olive leaves. Shipin Keji, (8): 111-114. Journal written in Chinese.

Document électronique :

→<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Olive-tree-trunk-0.jpg>

Le tronc d'oliviers

→(Wikipedia org)Structure chimique de quelques composés phénoliques identifiés dans les feuilles d'oliviers.

→https://fr.m.wikipedia.org/wiki/Saccharomyces_cerevisiae

→<http://coproweb.free.fr/mycoweb/texte/168.htm>

→https://fr.m.wikipedia.org/wiki/Schizosaccharomyces_pombe#:~:text=Schizosaccharomyces%20pombe%20appartient%20%C3%A0%20la,cellules%20filles%20de%20taille%20identiq.

Annexes :**Annexe : Composition des solutions des milieux de culture utilisée**

- **Eau physiologie stérile (Composition en g)**
- Chlorure en sodium NaCL.....9 g
- Eau distillée1000 mL
- Ph =7
- Stérilisation à 120 °C 15 min
- **Pomme de terre Dextrose Agar (PDA)**
- Composition : Pomme de terre200g
- Saccharose20g
- Agar20g
- Eau distillée stérile1000 mL
 - (Nous avons également utilisé le milieu P.D.A commercialisé) Préparation : -
Laver la pomme de terre et la couper en petit cubes - Mettre dans 500 mL d'eau distillée et porter à ébullition pendant 1 heure - D'autre part faire fondre l'agar dans 500 mL d'eau distillé - Ecraser et filtrer la pomme de terre pour obtenir l'extrait, puis ajouter à la solution d'agar - ajouter le Glucose - Agiter ce milieu jusqu'à homogénéisation - stériliser par autoclavage à 120°C / 20 min
- **Sabauraud dextrose agar « SDA »**
- Glucose 20g
- Peptone10g
- Agar17g
- Eau distillée.....1000 mL
- Milieu de conservation à 20 % glycérol

- Glycérol20 mL
- Eau distillée100 mL

Les appareils utilisés :



Photo : Bain Marie



photo : étuve



Photo : Rotavapeur