

الجزائرية الديمقراطية الشعبية الجمهورية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة 20 أوت 1955 - سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Science Biologique

Option: Microbiologie Appliquée

Intitulé

L'activité antifongique de la plante *Ruta montana L.*, 1756

Présenté Par : Boulgamh Bouchra - khellaf Fatima Zohra

Kifadji Rania - Medaif Amina -

Membre de Jury:

Pr. Slimani Souheila (Pr)	Président	Université du 20 Août 1955 – Skikda
Dr. Gueddah Doria (MCB)	Promoteur	Université du 20 Août 1955 – Skikda
Dr. Maachia Leila (MAA)	Examineur	Université du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2021/2022

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Résumé

المخلص

Abstract

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction01

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I. La plante <i>Ruta montana L., 1756</i>	03
1. Description général.....	03
2. Position général.....	03
3. Description botanique.....	04
4. Origine, habitat.....	05
5. Distribution géographique en Algérie.....	05
6. Nom vernaculaire de l'espèce	06
7. Usages dans la médecine traditionnelle.....	06
8. Utilisation en agro-alimentaire.....	07
9. Généralités sur les champignons.....	07

Chapitre II: Matériel et Méthodes

1. Matériel végétal.....	10
1.1.Extraction éthanolique.....	10
2. Les souches fongiques utilisées.....	12
2.1.Les prélèvements.....	12
2.1.1. Prélèvement de champignon de légume (olive).....	12
2.2.Identification des souches	12
3. Activité antifongique.....	14
3.1.Milieu de culture.....	14

3.2.Préparation des dilutions éthanolique.....	14
3.3.L'ensemencement.....	15
3.4.La méthode de diffusion en milieu solide (par papier wattman).....	16
3.5.La méthode de diffusion en milieu solide (diffusion en puits).....	17

Chapitre III: Résultats et Discussion

1. Pouvoir anti fongique de l'extrait éthanoïque.....	22
1.1. Méthode des disques.....	22
1.2.Méthode des puits.....	24
Discussion.....	25
Conclusion et Perspectives.....	27
Référence bibliographique.....	28

Remerciements

***Tout D'ABORD NOUS REMERCIONS LE DIEU QUI DONNE LA
VOLONTE, LA FORCE, LE***

COURAGE ET LA PATIENCE POUR REALISER CE TRAVAIL.

***NOUS REMERCIONS DR. GUEDDAH DORIA POUR AVOIR ACCEPTE
DE NOUS***

***ENCADRER, POUR SON AIDE, SES CONSEILS ET ORIENTATION AUSSI
LA CONFIANCE QUI***

IL NOUS ACCORDE EN REALISANT CE TRAVAIL.

***NOUS REMERCIONS EGALEMENT TOUTE L'EQUIPE PEDAGOGIQUE
DE L'UNIVERSITE***

DE SKIKDA.

***NOUS ADRESSONS NOS SINCERES REMERCIEMENTS A TOUS LES
PROFESSEURS,***

***INTERVENANTS ET TOUTES LES PERSONNES QUI PAR LEURS
CONSEILS ET LEURS***

***CRITIQUES ONT GUIDE NOS REFLEXIONS ET ONT ACCEPTE DE
REPONDRE A NOTRE***

QUESTIONS DURANT NOTRE RECHERCHE.

***NOUS REMERCIONS AUSSI LES MEMBRES DE JURY POUR ACCEPTER
D'EVALUER CE***

TRAVAIL.

MERCI.

Dédicace

Je dédie se projet :

A mon chère mère.

A mon cher père.

Qui ont toujours été pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance

A mes sœurs et à mon frère ainsi à toute ma famille, à tous mes amis pour leur aide à mon recherche scientifique.

A toutes les personnes qui je porte dans mon cœur.

KIFADJI RANIA

Dédicace

Je dédie ce mémoire qui est le fruit de mes étude à :

Mes très chers parents, qui mon encourage afin de réaliser ce travail.

Mes chers frères Ashraf et Saleh

Mes chers sœurs Hasna et Zohra

A mon marie Khaled pour leur encourage sa compréhension

A mon amie mina

Medaif Amina

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents (khellaf daas et aboula sakina) qui ont toujours été pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance :

A mon père qui a donné le courage pour continuer mon trajet d'étude, je veux te dire que tu es mon modèle dans la vie je t'aime papa.

A ma Maman qui a œuvré pour ma réussite, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils pour toute son assistance et sa présence dans ma vie je t'aime maman.

A mes sœurs : Meriem, Amina et loulou (félicitations certificat d'études primaires)

A mon frère : Mohamed (je te souhaite la réussite au bac 2022)

A les enfants de ma sœurs : Roukaya et Adam

A toute ma famille, du plus vieux au plus jeune, mes oncles et tantes

A ma grand-mère Aicha et ma grand-mère aldjiya, (رحمها الله)

A mes grands-pères aboula aissa et khellaf Salah (رحمهم الله)

A mes amis : bouzabia Nour el houda et guettar Bouchra et ramache Hanna et handah Ines et geurda fayrouz

A toutes les personnes qui je porte dans mon cœur

Khellaf Fatima Zohra

- Sara -



Dédicace

Je dédie ce travail :

Aux être le plus chères à ma mère :

Pour son soutien continu, sa patience et compréhension

Dans le moment la plus difficile de ma vie.

A mon père et mes frères vous exprimer toute mes affections

Et mon mari et la famille de mon mari pour leur grand soutien.

Bougamh Bouchra

Résumé

Ruta montana (Rutacée) est une plante aromatique médicinale largement utilisée dans la médecine traditionnelle dans de nombreux pays, comme laxatif, anti-inflammatoire, analgésique, antispasmodique, antiépileptique, emménagogue et pour le traitement des pathologies cutanées. Ces innombrables vertus thérapeutiques sont principalement dues à sa richesse en métabolites secondaires. Dans le cadre de l'évaluation de l'activité antifongique de la plante médicinale *Ruta montana*, nous avons testé la levure *Candida albicans*, et les champignons *Aspergillus niger*, *Geotrichum* et *Dermatophytes* par deux méthodes (méthode des disques et méthode des puits). Les résultats ont montré qu'elle a une activité antifongique variable selon les concentrations des extraits utilisées. Pour la méthode des disques ; les zones d'inhibition laissent paraître une sensibilité relativement importante aux concentrations des solutions (sensible pour *Aspergillus Niger*, *Dermatophytes*, et *Candida albicans*, très sensibles pour *Geotrichum*). Pour la méthode de puits ; des champignons extrêmement sensibles sont identifiés ; *Dermatophyte* et *Candida albicans*, très sensibles ; *Geotrichum* et sensibles ; *Aspergillus niger*. Il en ressort que l'activité antifongique de *Ruta montana* était efficace sur les champignons étudiés.

Mots clés : *Ruta montana* , Activité antifongique , *Aspergillus Niger*, *Dermatophytes*, *Candida albicans*, *Geotrichum*.

الملخص

Ruta montana (Rutaceae) هو نبات طبي عطري يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي في العديد من البلدان ، كملين ، مضاد للالتهابات ، مسكن ، مضاد للتشنج ، مضاد للصرع ، مطمئ ولعلاج أمراض الجلد. هذه الفضائل العلاجية التي لا حصر لها ترجع أساساً إلى ثرائها في المستقبلات الثانوية. كجزء من تقييم النشاط المضاد للفطريات للنبات الطبي *Ruta montana*، قمنا باختبار *Candida albicans* و *Aspergillus niger* و *Geotrichum* و *Dermatophyte* بطريقتين (طريقة القرص وطريقة البئر). أوضحت النتائج أن لها نشاط مضاد للفطريات متغير حسب تراكيز المستخلصات المستخدمة. بالنسبة لطريقة القرص تظهر مناطق التثبيط حساسية عالية نسبياً لتركيزات المحاليل (حساسية لـ: *Aspergillus niger*، *Candida albicans*، *Dermatophytes* ، حساسة جداً لـ *Geotrichum*). لطريقة البئر تم تحديد الفطريات شديدة الحساسية، *Candida albicans* *Dermatophytes*، حساسة للغاية؛ *Geotrichum* والحساسية، *Aspergillus Niger*. يبدو أن النشاط المضاد للفطريات في *Ruta montana* كان فعالاً على الفطريات المدروسة.

الكلمات المفتاحية :

Aspergillus Niger, Dermatophytes, Candida albicans, Geotrichum, Ruta montana - النشاط

المضاد للفطريات .

Abstract

Ruta montana (Rutaceae) is a medicinal aromatic plant widely used in traditional medicine in many countries, as a laxative, anti-inflammatory, analgesic, antispasmodic, antiepileptic,emet. These innumerable therapeutic virtues are mainly due to its richness in secondary metabolites. As part of the evaluation of the antifungal activity of the medicinal plant *Ruta montana*, we tested yeast *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Geotrichum* and *Dermatophyte* fungi by two methods (disc method of and and). The results showed that it has a variable antifungal activity depending on the concentrations of the extracts used. For the disc method: the zones of inhibition show a relatively high sensitivity to the concentrations of the solutions (sensitive for *Aspergillus niger*, *Dermatophytes*, and *Candida albicans*, very sensitive for *Geotrichum*). For the method of well: extremely sensitive fungi are identified; *Dermatophyte* and *Candida albicans*, very sensitive; *Geotrichum* and susceptible; *Aspergillus niger*. It appears that the antifungal activity of *Ruta montana* was effective on the fungi studied

Keywords: Antifungal activity, *Ruta montana*, *Aspergillus niger* , *Dermatophytes*, *Candida albicans* , *Geotrichum*.

Liste des figures

Figure 1 : <i>Ruta montana</i>	03
Figure 2 : Plante <i>Ruta montana</i>	04
Figure 3 : Sites de répartition de <i>R-montana</i> d'Algérie.....	05
Figure 4 : Photographie d'une oreille infectée par <i>A. niger</i>	08
Figure 5 : Photographie pied d'athlète.....	08
Figure 6 : Schéma présenter une infection vaginale.....	08
Figure 7 : Photographie d'olive contaminé par le champignon <i>Géotrichum</i>	09
Figure 8 : Photographie de la plante <i>Ruta montana</i> séchée à l'herboriste.....	10
Figure 9 : Série des dilutions éthanologique de <i>R-montana</i>	15
Figure 10 : Photographies représentant la méthode de l'ensemencement.....	15
Figure 11 : Illustration de la technique des tests antifongiques (disque).....	16
Figure 12 : Illustration de la technique des tests antifongiques (puits).....	17
Figure 13 : Zones d'inhibition de l'extrait éthanologique de la plante <i>Ruta montana</i> relative aux souches fongiques testées par méthode des disques.....	22
Figure 14 : Zones d'inhibition de l'extrait éthanologique de la plante <i>Ruta montana</i> relative aux souches fongiques testées par méthode des puits.....	24

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les noms vernaculaire de <i>Ruta montana</i>	06
Tableau 2 : Types d'usages de <i>Ruta montana</i>	06
Tableau 3 : Les différents prélèvements des champignons médicaux.....	12
Tableau 4 : Les souches fongiques testées.....	13
Tableau 5 : Observation macroscopique et microscopique.....	20
Tableau 6 : Valeurs des diamètres de les zones d'inhibition et valeur de la CMI de l'extrait éthanolique de la plante <i>Ruta montana</i> à les souches fongiques testées (méthode des disques).....	23
Tableau 7 : Valeurs des diamètres de les zones d'inhibition et valeur de la CMI de l'extrait éthanolique de la plante <i>Ruta montana</i> à les souches fongiques testées (méthode des puits).....	25

Introduction

Introduction

Au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base tel que, nourriture, abris, vêtements et aussi pour ses besoins médicaux. Les plantes possèdent d'extraordinaires vertus thérapeutiques. Leurs utilisations pour le traitement de plusieurs maladies chez les êtres vivants et en particulier l'homme est très ancienne et a toujours été faites de façon empirique (Svoboda et Svoboda, 2000).

De nos jours, nous comprenons de plus en plus, que les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés aux produits des métabolites secondaires. Leurs propriétés sont actuellement pour un bon nombre reconnue et répertorié, et donc mises à profit, dans le cadre des médecines traditionnelles et également dans la médecine allopathique moderne (Bourgaud *et al.*, 2001 ; Kar, 2007).

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée ; cependant ces ressources végétales potentielles et la valorisation de ses espèces n'ont été que partiellement étudiées, le genre *Ruta* appartient à la famille des *Rutaceae*, comprend plus de 1800 espèces, il se trouve principalement dans les régions tropicales et tempérées, Plusieurs espèces sont assignées au genre *Ruta* parmi lesquelles figurent *R graveolens L.*, *R. chalepensis L.*, *R. Montana* qui sont utilisés dans la médecine traditionnelle (Pollio *et al.*, 2008).C'est l'une les espèces les plus connues, on trouve *Ruta Montana*, communément appelée Fidjel. Cette plante est largement utilisée comme plante médicinale pour ses propriétés abortives et anti-fertilité, antispasmodique, analgésique, antirhumatismale, emménagogue et antiparasitaire, antifongique, médicament anti-inflammatoire; désinfectant; antipyrétique (Oliva *et al.*, 2003 ; Duke *et al.*, 2008 ; Kambouche *et al.*, 2008 ; Belkessam *et al.*,2011)

L'objectif de notre étude c'est l'évaluation de l'activité antifongique de l'extrait de la plante *Ruta montana* vis-à-vis de quelques souches fongiques.

Chapitre I :
Synthèse bibliographique

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I- La plante *Ruta montana* L.,1756

1-Description générale

La *Ruta montana* est une plante arbustive (Khadhri *et al.* 2014), vivace et annuelle qui fleurit de juin à septembre. Elle est de 20 à 40 cm de hauteur, comportant des feuilles glossique de couleur bleu-verte, à fleurs d'un jaune verdâtre en ombelle, avec un fruit en forme de capsule (Fig.1). La rue émet une odeur forte nauséuse plutôt désagréable et le goût de ses feuilles est très amer et acre. Cette espèce est cultivée dans les jardins ou en pots.

2-Position systématique

(Bonnier, 1999 ; Wiart, 2006 ; Takhtajan, 2009)

- **Règne** : Plante
- **Sous règne** : Tracbeo
- **Super division** : Spermatophyta (plante à grain)
- **Division** : Magnolioptida (dicotylédons)
- **Sous division** : Angiospermae
- **Classe** : Magnolioptida (dicotylédons)
- **Sous classe** : rosidae
- **Ordre** : Sapindales
- **Famille** : Rutaceae
- **Genre** : *Ruta*
- **Espèce** : *Ruta montana*



Figure 1 : *Ruta montana* (Gures-tiallaine, 2018).

3-Description botanique

La partie aérienne (Fig.2)

-**Tiges** : Droite, cylindriques, très rameuses, glabres et glauques de 2à5 pieds de hauteurs.

-**Feuilles** : pétiolées, alternes, éparses, composées, d'un vert glauque, à folioles ovales obtuses, épaisses, légèrement dentées sur les bords ou entières.

-**Fleurs** : jaunes, à cinq pétales concaves qui renferment dix étamines bien plus longues que les pétales et terminées par des anthères presque ronds, pédonculées en corymbe terminal. (Miller, 1785, Villars, 1789).

-**Fruits** : des capsules globuleuses à lobes arrondies et pédoncule court (4mm) et se terminent par 4 ou 5 lobes arrondies, apparent ; libérant à maturité de petites graines noirâtres. (Hamniche *et al.*, 2013).

-**Semences** : Réniformes, à embryon renfermé dans un albumen charnu (Thielens, 1862).

-**Odeur** nauséabonde et **saveur** chaude et amère.

✓ Partie souterraine

-**Racines** : Blanches, à fibreuses et à nombreuse radicules (Thielens, 1862).



Figure 2 : Plante *Ruta montana* (Route-Gourrama-Rich, 2017)

4-Origin, habitat

La rue est une originaire du sud Est de l'Europe. Elle est largement répandue dans le monde entier à cause de ses propriétés ornementales et médicinales, elle est souvent cultivée dans les jardins pour ses qualités décoratives en variété de couleur (Bezanger et al., 1976 ; Bezanger et al.,1986). Elle a été introduite en Grand Bretagne, en Espagne, un peu moins en Italie et en Yougoslavie. L'Espagne est le plus grand producteur d'huiles essentielles de la rue. Elle a été introduit en médecine chinoise, il y a près de deux siècles et est devenue très connue par la population (Bezanger *et al.*, 1976 ; Bossard et Cuisance, 1981 ; Rubin, 1988).

5-Distribution géographique en Algérie

La rue pousse spontanément dans les rochers, les lieux arides, vieux murs, collines sèches et elle est abondante dans les terrains calcaires et bien exposés au soleil dans les régions méditerranéennes (Quezel et Santa, 1963 ; San Miguel, 2003 ; Doerper, 2008), elle est présente dans les Rocailles, pâturages et pelouses du tell, communément retrouvés dans les zones montagneuses de l'intérieure jusqu'à l'Atlas du saharien (Clevely et Richmond, 1997). (Fig.3).

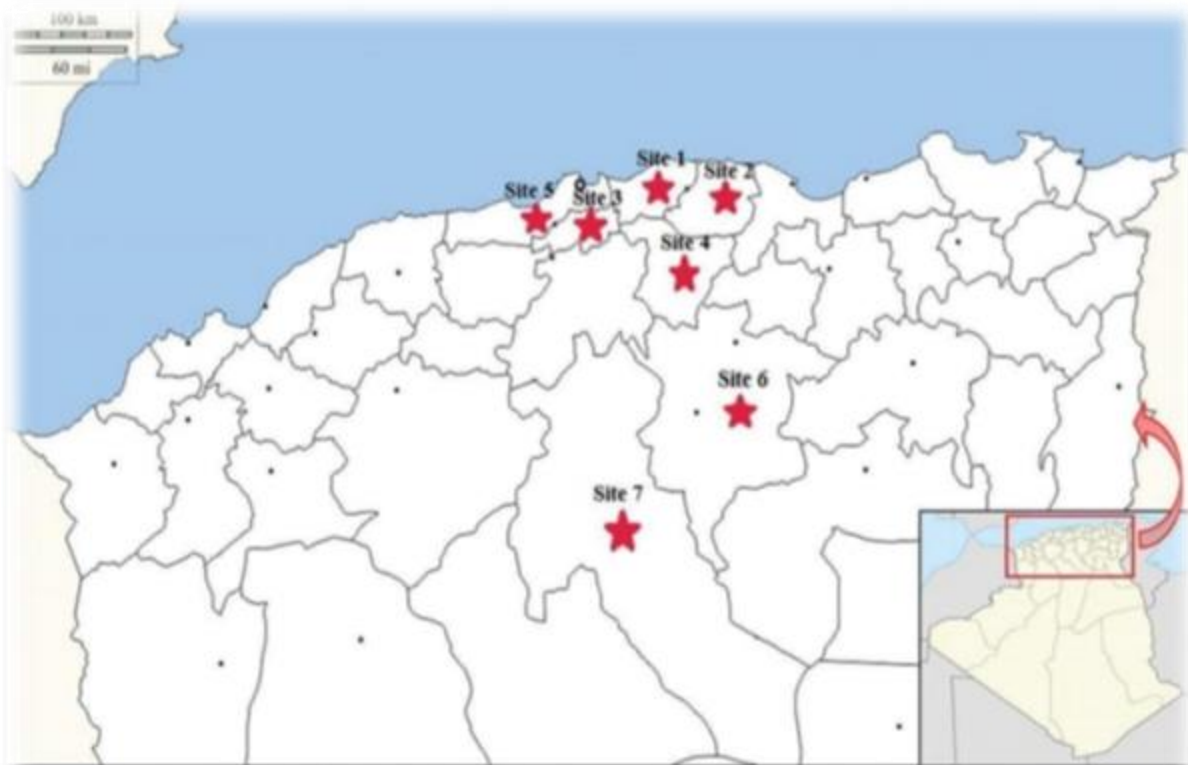


Figure 3 : Sites de répartition de *R-montana* d'Algérie (Mohammedi, 2019).

6- Nom vernaculaire de l'espèce

En Algérie, le genre *Ruta* connu par "El fijel" en arabe et "awermi" en berbère.

Tableau1: Les noms vernaculaires de *Ruta montana* (Benrhामoun et Cherifi, 2020).

	Nom
Arabe	El fijel
Berbère	Awermi
Français	Rue des montagnes
Allemand	Raute
Italien	Ruta
Anglais	Mountain Rue
Espagnol	Ruda

7-Usages dans la médecine traditionnelle

Ruta montana une plante à usage thérapeutique par excellence, les parties les plus utilisées sont les feuilles et les racines. Cette plante est utilisée (Tab.2) sous différentes préparations à savoir la décoction, l'infusion et la macération ; de plus, ses huiles ont aussi des vertus médicinales. Une pincée pendant une semaine est la posologie la plus recommandée pour éviter d'éventuelles intoxications (Daoudi *et al.*, 2015).

Tableau 2 : Types d'usage de *Ruta montana* (Hammiche *et al.*, 2013).

Pour l'usage interne	Pour l'usage externe
<ul style="list-style-type: none"> -Comme emménagogue puissant pour les règles douloureuses, les accouchements difficiles et, à doses fortes, comme abortifs et comme aphrodisiaque. -Pour les affections respiratoires sévères, les gastralgies, les troubles intestinaux, les spasmes, la goutte, épilepsie, les troubles nerveux, la paralysie et comme vermifuge. -En injections vaginales comme abortifs, en lavements comme anthelminthique. 	<ul style="list-style-type: none"> La décoction dans l'huile, en friction, soulage les rhumatismes, les courbatures et, appliquée sur la peau, a la réputation d'améliorer le vitiligo et le psoriasis. -L'infusion en collyre est employée contre les ulcérations de la cornée, en gouttes auriculaires pour les otites et les bourdonnements d'oreille ; par voie nasale, les gouttes traitent les fièvres et les vomissements du nourrisson et du jeune enfant.

8-Utilisation en agro-alimentaire

Les feuilles de la Rue dégagent une odeur forte et pénétrante que certains jugent désagréable. La Rue est pourtant une herbe condimentaire intéressante, que les anciens prisent beaucoup, elle entrait dans la composition du Moretum (condiment qui aromatisait de nombreux plats, voir le vin).

En quantité modérée ; les feuilles sont très bonnes dans les salades (Couplan, 1985). Les feuilles ou les jeunes rameaux hachés servent à aromatiser les salades, les sauces, les soupes, les légumes et les marinades ; aussi pour les légumes conservés dans du vinaigre, le beurre aux herbes, les plats de viande (tout particulièrement d'agneau et de mouton, de volaille et de gibier), les farces aux herbes, les plats à base de poisson ou d'œuf, les légumes secs (pois, fèves) les pinards, les champignons et les fromages blancs. En combinaison avec d'autres herbes aromatiques, ces feuilles peuvent également être tartinées, on peut les utiliser comme condiment pour cornichon ou pour aromatiser les tomates, elles constituent un ingrédient de la soupe à l'anguille, une spécialité de Homburg.

Dans la cuisine éthiopienne, la rue est aussi fréquemment rajoutée au café, au thé ou à toute autre boisson (Teuscher *et al.*, 2005).

9-Généralités sur les champignons étudiés

Les moisissures peuvent être définies comme des microorganismes hétérotrophes filamenteux et immobiles, dont la structure cellulaire est celle d'une cellule eucaryote classique (Nicklin *et al.*, 2000). Certaines vivent en symbiose avec des végétaux, d'autres sont des parasites des végétaux ou des animaux, d'autres enfin sont des saprophytes (Leveau et Bouix, 1993).

-*Aspergillus Niger* :

Les champignons du genre *Aspergillus* sont des moisissures, autrement dit des champignons microscopiques filamenteux, qui vivent en *saprobiose* dans de très nombreux écosystèmes.

Une taxonomie prend *A. niger* dans la classe des *Eurotiomycètes*, l'ordre des *Eurotiales*, la famille des *Trichocomaceae* et le genre *Aspergillus*. *A. Niger* est un champignon ubiquiste qui se développe très rapidement. Les souches peuvent être isolées de nombreux habitats écologiques différents tels que le sol, les débris végétaux et les fruits (Bennett, 2010 ; Thierry, 2011).



Figure 4 : Photographie d'une oreille infectée par *A. Niger*

-Les Dermatophytes :

Elles sont des affections causées par des champignons filamenteux microscopiques qui ont une affinité pour la kératine. Elles atteignent la peau épiderme et les phanères (cheveux, poils, et ongles) et très exceptionnellement les muqueuses et les viscères.



Figure 5 : Photographie de pied d'athlète

-Les Candidoses :

Les *candidoses* sont des affections fongiques *cosmoplites* provoquées par des levures appartenant au genre *Candida*. Ces levures sont à l'origine d'infections superficielles qui peuvent affecter aussi bien le revêtement cutané et les phanères (ongles, poils, cheveux), que les muqueuses (digestives et urogénitales).

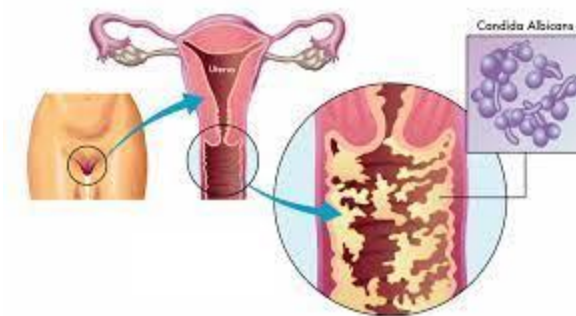


Figure 6 : Schéma représentatif d'une infection vaginale.

-Le *Geotrichum* :

Les champignons du genre *Geotrichum* sont des champignons filamenteux à thalle *septé* hyalin *Arthrosporés* appartenant aux *Deutéromycotina*, *Hyphomycètes* (hyalins ou clairs). La reproduction sexuée, avec production d'asques et d'ascospores, n'est connue que pour deux espèces : *G.candidum* et *G.capitatum*. En conséquence, les *Geotrichum* sont rattachés dans la classification récente aux Ascomycètes.



Figure7 : Photographie d'olive contaminée par le champignon *Geotrichum* (Photo originale, 2022).

Chapitre II :

Matériel et méthodes

Chapitre II : Matériels et méthodes

Nous avons commencé notre travail pratique du 1 mars 2022 au 30 mars 2022, le stage a été effectué au niveau du laboratoire microbiologique de l'université de 20 Aout 1955 de Skikda. L'objectif de notre étude c'est l'évaluation de l'activité antifongique de l'extrait de la plante *Ruta montana* vis-à-vis de quelques souches fongiques.

1-Matériel végétal

La plante sèche *Ruta montana* (Rue des montagnes) a été achetée chez l'herboristerie à Mila (nord-est d'Algérie) (Fig.8)



Figure8: Photographie de la plante *Ruta montana* séchée à l'herboristerie (Photo originale, 2021).

1.1.Extraction éthanolique

Après l'identification, la plante est nettoyée et broyée et filtrée à l'aide d'un tamis pour obtenir une poudre fine. Le protocole repose sur une extraction par macération dans l'éthanol aqueux (extraction solide/liquide) suivie d'une évaporation selon le protocole suivant:

- Peser 300 grammes de la poudre de la partie aérienne de la plante dans un bécher



- Ajouter 500 ml de l'éthanol 95°



- Couvrir le mélange avec du papier aluminium et agiter pendant 1 heure (agitateur)



- Verser le mélange dans un dessiccateur et laisser macérer pendant 24 heures



- Filtrer sur un papier filtre Whatman (N°1)



- Récupérer le filtrat dans un flacon
- Placer la solution dans le ballon d'évaporation ;



- Procéder à l'évaporation jusqu'à disparition complète du solvant

- Placer l'extrait obtenu dans une boîte de pétri couvrir avec du papier aluminium à l'étuve à 40°C.



2. Les souches fongiques utilisées

2.1. Les prélèvements (Boutiba *et al.*, 2013 modifié)

Afin d'étudier l'activité antifongique du *Ruta montana*, deux types de prélèvement ont été réalisés ; le premier concerne des champignons des légumes et des fruits et le deuxième concerne des champignons médicaux (Tab.3).

Tableau 3 : Les différents prélèvements des champignons médicaux.

Les Champignons	La localisation	Le Mode de prélèvement
<i>Candida albicans</i>	Muqueuse vaginale	Ecouvillonnage à l'aide d'écouvillon stérile
<i>Dermatophyte</i>	Pied d'athlète	Gratter la surface de pied avec un écouvillon stérile
<i>Aspergillus Niger</i>	Oreilles	Ecouvillonnage du conduit auditif externe à l'aide d'un portageur

2.1.1. Prélèvement de champignon de fruit (Olive) :

L'échantillon doit être prélevé de manière aléatoire ou systématique, c'est-à-dire à différents endroits (dessus, centre et fond).

2.2. Identification des souches :

L'identification d'une souche représentative est effectuée par deux techniques classiques ; une observation macroscopique et une étude microscopique des souches largement suffisantes pour déterminer le genre des moisissures isolées et cela en réalisant des

ensemencement par touches sur des milieux d'études solides favorisant la croissance et la sporulation des moisissures.

-Etude macroscopique :

Les caractères morphologiques et culturaux sont déterminés après ensemencement des souches pures les milieux de cultures spécifiques. L'identification ce fait à l'œil nu, elle se base essentiellement sur les caractères suivants : la vitesse de croissance, l'aspect du mycélium aérien, couleur de l'envers de la colonie, l'odeur et la couleur des moisissures.

-Etude microscopique :

L'identification microscopique des champignons repose sur plusieurs méthodes, les deux les plus utilisées sont celles du ruban adhésif et la méthode de lactophénol bleu de coton. Ces deux méthodes sont décrites ci-dessous ;

- Ruban adhésif : un petit morceau du ruban adhésif est appliqué par la face collante sur la colonie puis déposé sur une lame porte-objet.
- Lactophénol bleu de coton : un fragment de la colonie est prélevé à l'aide d'une anse de platine et déposé sur une lame porte-objet dans une goutte du colorant, ensuite recouvrir avec une lamelle couvre-objet qui écrase la préparation.

Tableau04 : Les souches fongiques testées.

Groupe de germes	Espèces	Origine de la souche
Levures	<i>Candida albicans</i>	Prélèvement : vaginale Sexe : femme Age :25 ans
Champignons	<i>Dermatophyte</i>	Prélèvement : cutanée Sexe : femme Age : 50 ans
	<i>Aspergillus Niger</i>	Prélèvement : les oreilles Sexe : femme Age : 45 ans
	<i>Geotrichum</i>	Prélèvement : Olives pourrie

3. Activité antifongique

3.1. Milieu de culture (Mondo *et al.* 2016).

Le milieu de culture utilisé pour l'activité antifongique du *Ruta montana* est la gélose PDA (Potato dextrose agar).

Constituants :

Milieu de culture	Composition	Quantité
PDA	Pomme de terre	200g
	Glucose	10g
	Agar	10g
	L'eau distillée	1L

Préparation :

Il a été préparé à base de la pomme de terre suivant les étapes suivantes :

Lavage des pommes de terre suivi du découpage et d'un pesage (100 g ont été nécessaire) à la balance .Elles ont été cuites dans un bécher gradué de 1 l jusqu'au ramollissement , puis pressées à l'aide d'une cuillère de cuisine ,filtrées dans erlenmeyer graduée de 1L et mélangées avec 10 g d'agar-agar et 10g de glucose l'homogénéisation de la solution a été faite à partir d'un agitateur magnétique l'erlenmeyer a été bouché par de l'ouate puis stérilisé à l'autoclave.

3.2. Préparation des dilutions éthanoïque

Matériel utilisé:

Tube à essai, bec bunsen, bain marie, pipette pasteur un verre, extrait, éthanol

Principe :

L'extrait de *Ruta montana* est dissous pour préparer les dilutions successives au demi, on a 5 tube, on met 1ml d'éthanol dans le premier tube et on ajoute 1mg de l'extrait, on ferme le tube et bien mélanger la solution, et ainsi on obtient la solution mère. Après cela on met 9ml d'éthanol dans les tubes restants, puis on prélève 1ml du premier tube (la solution mère)

Et on le met dans le deuxième tube (10^{-1}), on ferme le tube et on agite bien, on continue de la même manière pour les tubes (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}).

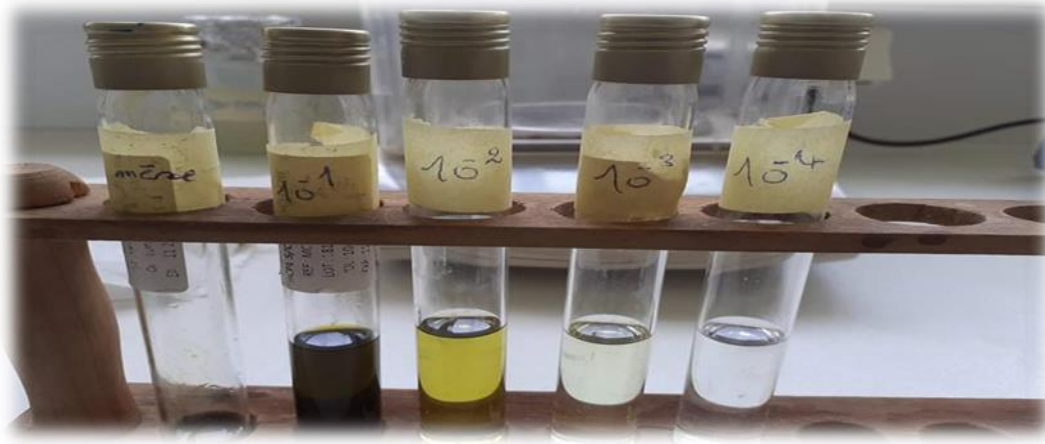


Figure 9: Série des dilutions éthanolique de *Ruta montana*.

3.3.L'ensemencement

- L'ensemencement se fait par la méthode de Kirby-Baur, par écouvillonnage (appelée méthode NCCLS) (The National Committee for Clinical Laboratory Standards).
- Plonger un écouvillon stérile dans une suspension fongique et laisser s'imbiber.
- Le sortir du tube en l'essorant doucement de la paroi.
- Ensemencer la boîte de PDA dans l'épaisseur de la gélose est de (4mm), en frottant l'écouvillon sur sa surface et en tournant la boîte 3 fois de 60° afin d'assurer une bonne distribution de l'inoculum.
- Laisser sécher les boîtes pendant 15 à 20 mn



Figure 10 : Photographies représentant la méthode de l'ensemencement.

A - Mettre Milieu PDA

B-Suspension fongique

C-Ensemencement de champignons par stries sur milieu PDA.

3.4. La méthode de diffusion en milieux solide (par papier whatman)

Le matériel utilisé: Boîte de pétri - Pince stérile - Bec bunsen - Disque de papier whatman - L'étuve - Milieu de culture (PDA) - Bain marie.

Le principe :

Principe de la diffusion du principe actif dans la méthode « des disques ». Les disques de papier whatman imprégnés de la substance à tester sont déposés à la surface de milieu PDA et laissé diffuser la substance dans le milieu, créant ainsi un gradient de concentration de la substance a testé.

Méthode des disque (Fontanay, 2015) (Modifié)

Actuellement, cette méthode est la plus connue et la plus utilisées, elle consiste en l'ensemencement sur un milieu PDA, dans une boîte de pétri, d'une suspension bactérienne. La substance à tester est ensuite imprégnés sur un disque stérile (6 mm de papier whatman), ils sont placés dans une boîte de pétri, qui a été divisée en quatre, ou les disques sont placés au milieu de la boîte et une boîte de pétri témoin est utilisé dans lequel un disque imprégné d'éthanol (96%) est placé au centre.

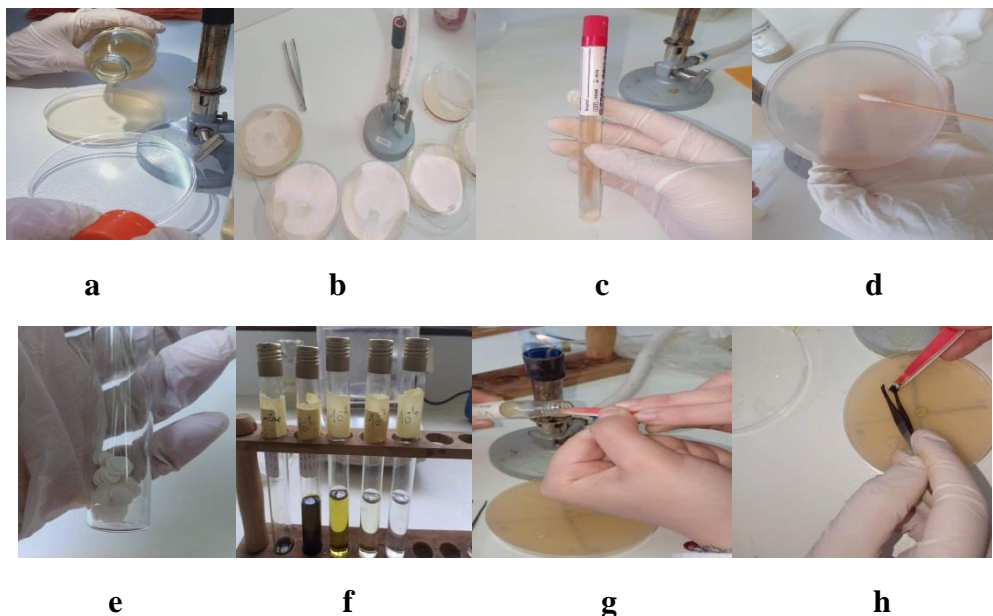


Figure 11: Illustration de la méthode des disques pour les tests antifongiques.

a-Verser le milieu PDA- **b-**laisser sécher 5min- **c-**Suspension fongique- **d-**L'ensemencement **e-**Les disques- **f-**Séries des dilutions- **g-**Faire trempé le disque Dans le diluant- **h-**Dépôt les disques sur gélose.

Incubation :

Incuber à 30°C dans un délai de 15 minutes après l'application des disques. La durée d'incubation est de 24 heures.

3.5 .La méthode de diffusion en milieu solide (diffusion en puits)

Matériel :

-Boites de pétri, l'étuve, écouvillons, pipette pasteur, Milieu de culture (PDA), Bain mari, Bec bunsen, Pied à coulisse.

Méthode des puits : (Belhaoues, et Maaizia., 2013) (modifié)

Dans cette méthode le milieu utilisé est le milieu (PDA) coulé sur les boites de pétri a une épaisseur de 8mm après ensemencé sur la gélose par un écouvillonnage, à l'aide d'une pipette pasteur stérile creuser 5 puits de 6 mm de diamètre sont réaliser de manière concentrique sur les milieux puits au centre, et creuse un seul puits au centre de la boite témoin, déposer quelques gouttes de l'éthanol (96%) sur le milieu puits.

Incubation :

Après une pré-diffusion de 45 min à température ambiante les souches sont incubées à 37°C pendant 24 heures au terme de quelles les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés à l'aide d'un pied à coulisse.

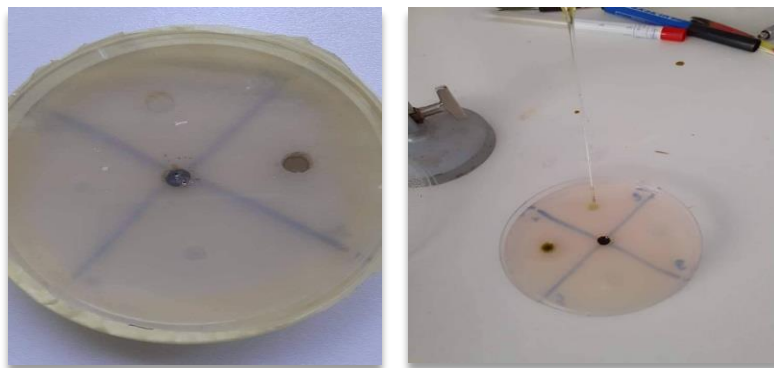


Figure 12 : Illustration de la technique des tests antifongiques (puits).

- Interprétation :

L'échelle d'estimation de l'activité antifongique est donnée par Moreira *et al.*, (2005) , ils ont classé le diamètre des zones d'inhibition (D) comme suit :

- Non sensible (-) : $D \leq 8$ mm
- Sensible (+) : $9 \leq D \leq 14$ mm
- Très sensible (++) : $15 \leq D \leq 19$ mm
- Extrêmement sensible (+++) : $D \geq 20$ mm

Chapitre III :

Résultats et discussion

III. Résultats et discussion

Le tableau 5 ci-dessous regroupe les résultats de l'observation macro et microscopique des 4 champignons étudiés et il en ressort :

Candida albicans :

Macroscopique : des colonies blanche bombé opaque

Microscopique : les Chlamydo-spores de cette espèce = spores terminales ou latérales, rondes ou ovale, à paroi épaisse à double contour.

Aspergillus Niger :

Macroscopique : d'aspect macroscopique est cotonneuse de couleur noire

Microscopique : champignon filamenteux comportant des hyphes septés et ramifiés formant un mycélium.

Dermatophyte :

Macroscopique : des colonies veloutée et de couleur noire

Microscopique : des champignons filamenteux, keratinophiles,


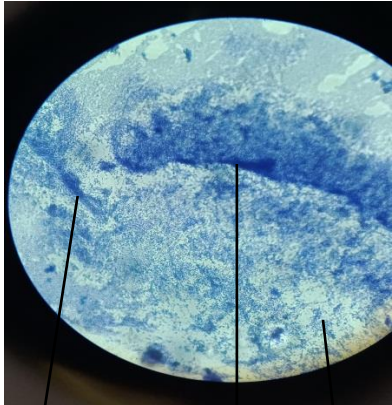
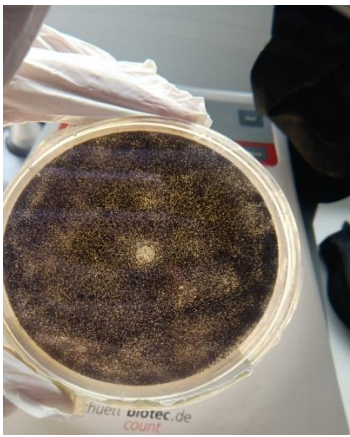
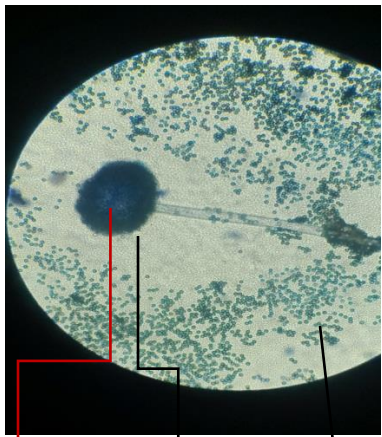
Géotrichum :


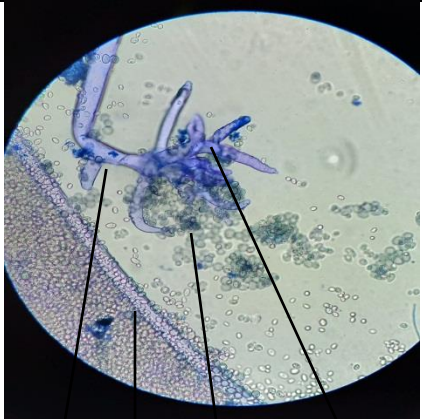
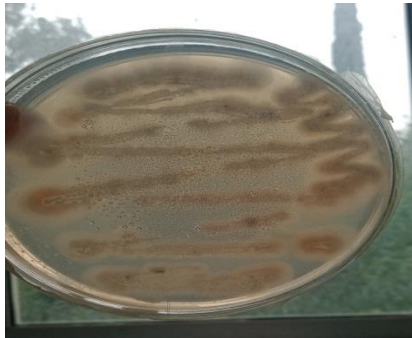
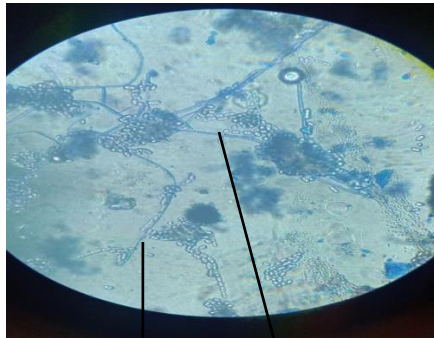
Macroscopique : des colonies ont un aspect poudreuse, plates couleur blanche

Microscopique : après coloration au bleu de méthylène nous observons les mycéliums de Géotrichum ; ils sont organisés en hyphes cloisonnées (dit septées), fragmentent pour donner les arthroconidies qui sont des spores asexuées et individuelles.

Les champignons sont colorés en bleu sombre. Cette coloration est intéressante pour l'observation rapide des frottis mais elle permet seulement l'étude de la morphologie des champignons.

Tableau5 : Résultats des observations macroscopiques et microscopiques.

Les champignons	Observation macroscopique	Observation microscopique
<p><i>Candida albicans</i></p>	 <p>Levure, Observation après 48h d'incubation Aspi : crémeuse, colonie bombé Couleur : blanche Croissance : rapide Opacité : non opaque Contour : régulé</p>	 <p>blastospores chlamydozoospores pseudo filament observation par microscope optique – état frais - objectif (×10)</p>
<p><i>Aspergillus niger</i></p>	 <p>après 48 h d'incubation Aspect : cotonneux Couleur : noire Croissance : rapide</p>	 <p>Tête Chaîne de spores spore libre Observation par microscope optique – état frais – objectif (×10)</p>

<p><i>Dermatophyte</i></p>	 <p>Observation après 48 h d'incubation Aspect : veloutée Couleur : noire Croissance : rapide Opacité : non opaque</p>	 <p>Canidiophore Canidiospores phialides Septatehyphae Observation par microscope optique – état frais – objectif (×40)</p>
<p><i>Géotrichum</i></p>	 <p>Observation après 48 h d'incubation Aspect : poudreuse Couleur : blanche Croissance : rapide Colonie : plate et au pour tour finement frangé Opacité : non opaque</p>	 <p>Arthrospore ou Arthroconidies (conidiogénèse tallique) Mycélium à hyphes cloisonné (septés) observation par microscope optique – état frais - objectif (×40)</p>

1. Pouvoir antifongique de l'extrait éthanolique

L'échelle d'estimation de l'activité antifongique est donnée par Moreira *et al.*, (2005).

1.1.Méthode des disques :

Les zones d'incubation observées autour des disques imprégnés avec l'extrait de la plante étudiée après 48h d'incubation à 37C° sont représentées par la figure 13 et résumés dans le tableau 6.

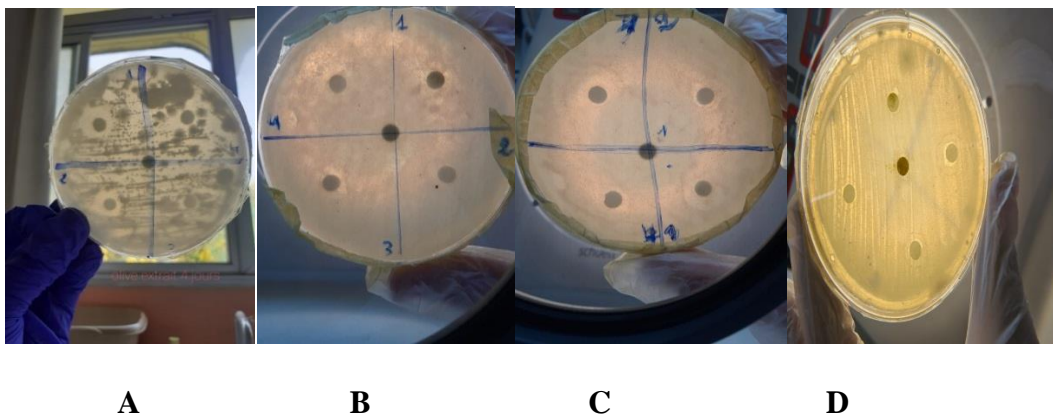


Figure 13: Zones d'inhibition de l'extrait éthanolique de la plante *Ruta montana* relative aux souches fongiques testées par méthode des disques.

A : *Geotrichum* **B :** *Aspergillus niger* **C :** *Candida albicans* **D :** Dermatophyte

Le tableau 6 regroupe les valeurs des diamètres de la zone d'inhibition et valeurs de CMI de l'extrait éthanolique de la plante étudiée, pour le *Geotrichum* ils sont compris entre 10-15 mm. Selon l'échelle donnée par Moreira *et al.* (2005), le champignon *Geotrichum* est très sensible (++) à l'extrait éthanolique.

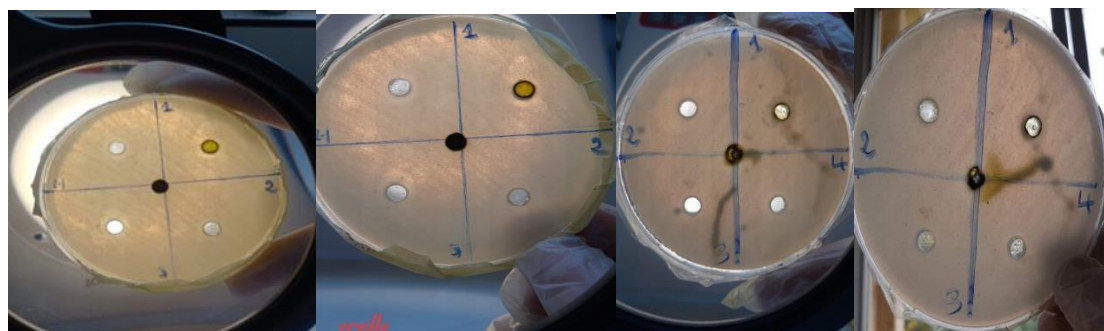
Tableau 6 : Valeurs des diamètres de la zone d'inhibition et valeurs de la CMI de l'extrait éthanolique de *Ruta montana* en fonction des souches fongiques testées (Méthode des disques).

Extrait testé	Les souches	Dilutions	D (mm)	Effet	Témoin
Extrait éthanolique	<i>C.albicans</i>	mère	8	-	0
		10 ⁻¹	12	+	
		10 ⁻²	10	+	
		10 ⁻³	14	+	
		10 ⁻⁴	10	+	
	<i>A.niger</i>	mère	0	-	0
		10 ⁻¹	9	+	
		10 ⁻²	8	-	
		10 ⁻³	11	+	
		10 ⁻⁴	13	+	
	<i>Dermato</i>	mère	0	-	0
		10 ⁻¹	10	+	
		10 ⁻²	8	-	
		10 ⁻³	10	+	
		10 ⁻⁴	11	+	
	<i>Géotrichum</i>	mère	0	-	0
10 ⁻¹		15	++		
10 ⁻²		10	+		
10 ⁻³		8	-		
		10 ⁻⁴	5	-	

Selon la figure 13 ci-dessous, il est clair que l'extrait éthanolique de la plante *Ruta montana* a une bonne activité contre *Géotrichum* par rapport aux autres espèces de champignon. D'après les résultats du tableau 6 les plus grandes surfaces sont observées chez les champignons *Géotrichum* et *C.albicans*, ce sont donc les espèces les plus sensibles à cet extrait.

1.2. Méthode des puits :

Les zones d'incubation observées autour des puits rempli avec l'extrait de la plante *Ruta montana* après 48h d'incubation à 37C° sont représentés par la figures 14 et résumés dans le tableau7.



A

B

C

D

Figure14 : Zones d'inhibition de l'extrait éthanolique de la plante *Ruta montana* relative aux souches fongiques testées par la méthode des puits.

A : Dermatophyte B : *A.niger* C : *Géotrichum* D : *Candida albicans*

Le tableau 6 regroupe les valeurs des diamètres moyens de la zone d'inhibition et valeurs de CMI de l'extrait éthanolique de la plante étudiée, pour *Dermatophyte* les diamètres varient entre 13-21 mm. Selon l'échelle de donnée par Moreira *et al.* (2005), le champignon *Dermatophyte* est extrêmement sensible (+++) à l'extrait éthanolique.

Selon la figure 14 il est clair que l'extrait éthanolique a une bonne activité antifongique contre *Dermatophyte* comparé aux autre espèces.

D'après les résultats du tableau 7 ; pour cette méthode, les zones d'inhibition maximale ont été observées contre les champignons *Dermatophyte* et *Géotrichum* ces ce qui fait d'eux les espèces les plus sensibles à cet extrait.

Tableau 7 : Valeurs des diamètres de la zone d'inhibition et valeur de la CMI de l'extrait éthanolique de *Ruta montana* en fonction des souches fongiques testées (Méthode de puits).

extrait testé	les souches	dilutions	D (mm)	effet	Témoin
		mère	12	+	
		10 ⁻¹	10	+	
	<i>C.albicans</i>	10 ⁻²	19	++	0
		10 ⁻³	11	+	
		10 ⁻⁴	13	+	
		mère	0	-	
		10 ⁻¹	13	+	
	<i>A.niger</i>	10 ⁻²	11	+	0
		10 ⁻³	14	+	
Extrait		10 ⁻⁴	10	+	
éthanolique		mère	13	+	
		10 ⁻¹	18	++	
	<i>Dermato</i>	10 ⁻²	20	+++	0
		10 ⁻³	14	+	
		10 ⁻⁴	21	+++	
		mère	0	-	
		10 ⁻¹	15	++	
	<i>Géotrichum</i>	10 ⁻²	15	++	0
		10 ⁻³	12	+	
		10 ⁻⁴	0	-	

Discussion

- Selon Allouni (2018) les résultats de l'étude anti fongique des différents extraits de *Ruta montana* ; indiquent que la sensibilité d'*Aspergillus niger* et *Fusarium oxysporum* est accrue en fonction de l'augmentation de la concentration, ce même constat est observé dans notre travail pour *Dermatophyte* et *Géotrichum* .
- L'action de l'extrait éthanolique de feuille de *Phlomis bovei de Noé* est importante (17 mm) sur *C. albicans* la levure *Candida albicans* est donc très sensible (++) à l'extrait éthanolique des feuilles de la plante étudiée par Belgaid *et al.*,(2013), en comparaison avec notre étude ; la levure *Candida albicans* est également très sensible (++) à l'extrait de la plante *Ruta montana*.

- Selon l'échelle d'estimation de l'activité antifongique donnée par Moreira *et al.*,(2005), les champignons *Dermatophyte* sont extrêmement sensible (+++) à l'extrait éthanolique et *C. alibicans* très sensible (++) avec *Géotrichum* (++) pour la dilution (10^{-2}) en méthode de puits. En comparaison avec la méthode des disques il en ressort : Le champignon *Dermatophyte* est sensible (+) à la dilution (10^{-4}) et non sensible (-) à la dilution (10^{-2}) et *C. albicans* est sensible (+) avec *Géotrichum* sensible (+) pour la même dilution.

A la lumière de ces résultats il est claire que l'extrait éthanolique a un effet relativement important sur les espèces que nous avons étudié selon la méthode de puits comparé à la méthode des disques ou l'effet était moindre sur les champignons.

Conclusion

Conclusion et Perspectives

Dans ce travail, nous avons étudié une plante médicinale et aromatique très utilisée dans la pharmacopée traditionnelle algérienne appelée *Ruta montana* (el fidjel). Elle était utilisée comme abortif, emménagogue et contre des maladies pulmonaires, l'ensemble des travaux se sont basés sur le pouvoir antifongique de l'extrait de *Ruta montana*.

La partie de la plante étudiée, le solvant d'extraction, les conditions et la durée d'extraction influencent directement le rendement de l'extrait quant à l'activité antifongique qui a été évaluée dans notre étude par deux méthodes (disques et puits).

L'étude du pouvoir antifongique de l'extrait de la plante étudiée a permis de visualiser une action inhibitrice intéressante sur *Dermatophyte* comparativement aux autres champignons.

Pour la continuité de notre travail, nous proposons d'étendre les études sur l'extraction de principes actifs et l'activité antimicrobiennes des plantes médicinales de la pharmacopée algérienne et d'identifier éventuellement de nouveaux composés pouvant trouver une utilisation en thérapeutique.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- A -

-Allouni, R. (2018). Etude des aspects morphologiques, phytochimiques et pharmacotoxicologiques de la plante ruta Montana. 126 pages. Thèse de Doctorat, faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Ferhat Abbas Sétif 1, Algérie.

- B -

-Belhaoues F., Maaizia M. (2013). à activité antibactérienne des nanoparticules métalliques (Agno 3, Zno, cuo) vis-à-vis à Staphylococcus aureus et Pseudomonas aeruginosa, 2013 université de 8 mai 1945 Guelma ,mémoire de master 17.

-Belkassam, A., Zellagui, A., Gherraf, N., Lahouel, M et Rhouati. (2011). Essential oil composition of Algerian Rutamontana (Clus.) L. and its antibacterial effects on microorganisms responsible for respiratory infections. Advances in Natural and Applied Sciences, 5(3), 264-268

- Bennett, J. (2010). An Overview of the Genus *Aspergillus*. In M. Machida and K. Gomi (ed.), *Aspergillus Molecular Biology and Genomics*.

-Benrahmoun F., Cherifi K. (2020). Hémi-synthèse des dérivés azotés à partir de l'huile essentielle de rut amontana L. et application, université de Blida 1, mémoire de master.

-Bezanger, B. L., Pinkas, M., Torck, M. (1976). Les plantes dans la thérapeutique moderne, Maloine, Paris. **31.**

-Bezanger, B. L., Pinkas, M., Torck, M. (1986). Les plantes dans la thérapeutique moderne, 2eme Ed.

-Bonnier, G. (1999). La grande flore en couleur ;ed :belin ;tome3 ;p :205-206.

- Bossard, R et Cuisance P. (1981). Arbres et arbustes d'ornement des régions tempérées et méditerranéennes, Paris, France.

-Bouchra J-P., Pihet M., de gentilé I., Chabasse D. (2010). Les levures et levures. Cahier de bio formation biologie médicale. N°44. Pges 14-34.

-Bounechada M., Bouzidi A., lalaoui K., Battache A., Touati N. (2013). Etude des aspect morphologique, phytochimiquesetpharmaco-toxicologiques de la plante *Ruta montana*, université Ferhat Abbas Sétif 1, mémoire de doctorat

-Bourgaud F., Gravot A., Milesi S., et Gontier E.(2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective; *Plant Science* 161, p: 839-851

- Boutiba Z, Mouffok S., Abid-Kachour S. (2013). «Description of a New Species of *Sphincteristomum* from Sparid Fishies of the Algerian Coast (Western Mediterranean)," *Journal of Environmental Protection*, Vol. 4 No, 10.

- C-

- Clevely A., Richmond K. (1997). *Plantes et herbes aromatiques, connaître et préparer*, Larousse Paris.

- Couplan F. (1990). *Plantes sauvages et toxiques, encyclopédie des plantes comestibles de l'Europe*

- D-

-Daoudi, A. Najem, M. Bachir, L. Ibijbijen, J. et Nassiri, L. (2015). *Journal of Animal & Plant Sciences (J.Anim.PlantSci.ISSN 2071-7024)*.40(3). P- 6712, 6 730.
<https://doi.org/10.35759/JAnmPlSci.v40-3.4>. P 6717.

-Dgellabi H., DRIS D., Bouabida H., Seghier H. (2020). Rendement d'huile essentielle d'une plante médicinale *Ruta montana* et leur bio activité sur les moustique du genre *Culex*, université Larbi tèbassi tébassa , mémoire de master

- Doerper, S. (2008). Thèse Doctorat « Modification de la synthèse des furocoumarines chez *Ruta graveolens* L. par une approche de génie métabolique », p: 39-41.

-Duke, A. J., Duke, P. A. K et Ducellie, J. L. (2008). *Duke's handbook of medicinal plants of the bible*, p: 394– 398

- G-

-Guers-tiallaine. (2018). (gps: 32.2416,-4.3158-altitude: 1260m)

- H-

-Hammiche, V. Merad, R. et Azzouz, M. (2013),Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen, Springer. P- 212.

- J-

- Jean M., Alphonse B., Victor M., Luc Z., Espoir B., Théophile K., Jean N-M., Gustave M. (2016),Effets des milieux de culture (PDA,SDA,SPDA,blé et maïs) sur la productivité in vitro de la souche P969 du pleurotusostreatus (Jacq.) P.Kumm.In : Afrique Science Revue internationale des Science et Technologie, 12 (4) 374-381.

- K-

-Kambouche, N., Merah, B., Bellahouel, S., Bouayed, J., Dicko, A., Dourdour, A., Younos, C et Soulimani, R. (2008),Chemical composition and antioxidant potential of Rutamontana L. essential oil from Algeria. J Med Food.11(3):593-5. doi: 10.1089/jmf.2007.0515.

-Kar A.,(2007), Pharmacognosy and Pharmabiotechnology; Ed 2: NEW AGE INTERNATIONAL PUBLISHERS; p: 1-30.

-Khadhri A., Bouali I., Belkhir S., El mokni R., Smiti S., Almaida C., Nogueira J.M.F and Araujo M.(2014),chemical variability of two essential oils of Tunisian Rue : Ruta montana and Ruta chalepensis.Journal of essential oil bearing plants , 17:3,445-451.

- L –

-Leveau S. B et Bouix M. (1993). Les microorganismes d'intérêt industriel, Lavoisier Apria, p 110-163.

- M –

-Miller P. (1785). Dictionnaire des jardiniers, ouvrage traduit de l'Anglais sr la huitième édition, p 410-411.

-Moreira M.R., ponce A.G ., Del valle C.E., Roura S.I. (2005).Inhibitory parameters of essanciais oils to reduce a foodborne pathogène . leaving Water Temperature , 38 : 565- 570

- N –

- **Nicklin J., Graeme-Cook K., Paget T et Killington R.(2000)**. L'essentiel en microbiologie, Berti, Paris, p 210-216.

- **Nicolas J-C. (2003)**. Parasitoses et mycoses courantes de la peau et des phanères. Edition Elsevier. 146 Pages

-O-

-**Oliva K. M., Meepagala D. E., Wedge D., Harries A. L., Hale G., AliottaS et Duk O. (2003)**. Natural Fungicides from *Rutagraveolens* L. Leaves, Including a New Quinolone Alkaloid. *J. Agri. Food Chem.* 51 (4), 890-896

-P-

-**Pollio A., de natale A., Appetiti E., Aliotta G., and Touwaide A.(2008)** . continuity and change in the Mediterranean medical tradition : *Ruta* spp.(rutaceae) in Hippocratic medicine and present practices. *Journal of ethnopharmacology*, 3(116):469482.

- Q –

- **Quezel P et Santa S. (1963)**. Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertique méridionales. CNRS, Paris.

- R –

- **Rezkallah L. (2019)**. *Geotrichum* et Géotrichose . Faculté de médecine. Page 2

- **Bossard R et Cuisance P. (1981)**. Arbres et arbustes d'ornement des régions tempérées et méditerranéennes, Paris, France.

.- S –

- **San Miguel E. (2003)**. Rue (*Ruta L.*, Rutaceae) in traditional Spain: frequency and distribution of its medicinal and symbolic applications. *Economic Botany* 57(2): 231-244.

- **Fontanay S., Mougenot M. E., et Duval R.E. (2015)**. Evaluation des activités antibactériennes des huiles essentielles et / ou de leurs composants majoritaires . *Hegel* vol.5N°2-2015

-**Svoboda K., et Svoboda T., (2000)**, Secretory structures of aromatic and medicinal plants; Ed: Microscopix Publications; p: 7-12.

-T-

-**Takhtajan A. (2009)**. Flowering Plants ;ed2 :springer ;p :33-41,375.

-**Teuscher E., Anton R et Lobstein A. (2005)**. Plantes aromatiques épicées, aromates, Condiments et huiles essentielles. Edition TEC and DOC, Lovoisier. pp : 6- 266-272.

- **Thielens A. (1862)**. Flore médicale Belge, p 255-256.

-**Thierry S. (2011)**. Thèse doctorat « Etude de la diversité génétique et du pouvoir pathogène d'*Aspergillus fumigatus* et de *Chlamydomphila psittaci* chez les oiseaux ».

- V–

- **Villars, M. (1789)**. Histoire des plantes de Dauphiné (Contenant les espèces, les caractères, les synonymes et les vertus générales), p 582- 583.

-W-

-**Wiert C.(2006)** .Medicinal Plants of the Asia-pacific :dugs for the future ;Ed :world scientific,p :401-416.

