الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire

Projet de fin d'études

Pour l'obtention du ***Diplôme***

de master vétérinaire

Etude de l'activité antifongique de l'huileessentielle du clou de girofle (Syzgiumaromaticum)

Présenté par : BAROUR Rania

Soutenu le *: 14/09/2022*

Devant le jury composé de *:*

- *Dr IDRES T*	*Président*	*MCB*	*ENSV*
- *Dr DERGUINI A*	*Promoteur*	*Doctorante*	*ENSV*
Dr SAHRAOUI L	*Examinateur*	*MCB*	*ENSV*

Année universitaire : 2021/2022

Déclaration sur l'honneur

Je soussigne BAROUR Rania déclaré être pleinement consciente que le plagiat de documents, ou d'une partie d'un document publiés sous toute forme de support, y compris l'internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée.

En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisé pour écrire ce mémoire de fin d'étude.

Remerciements

Mes vifs remerciements vont à ma chère promotrice ***Dr. DERGUINI Assia*** *enseignante à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire qui a contribué à la réalisation de ce travail en partageant toutes ses connaissances pendant cette courte période où nous avons travaillé ensemble. Merci pour la qualité de votre écoute, de vos précieux conseils et votre soutien, vous m'avez toujours guidée et montrée le bon chemin vers le succès.*

Mes sincères remerciements au ***Dr. IDRES*** *pour son aide, ses bons conseils et pour m'avoir fait l'honneur de présider mon jury de soutenance de master.*

Au ***Dr. SAHRAOUI L****, merci d'avoir accepté d'examiner ce présent travail.*

Je ne saurai jamais assez remercier toute ma famille, en particulier ma chère mère, mon cher père, mon frère et mes sœurs pour les sacrifices et l'amour qu'ils ont témoigné à mon égard.

Dédicaces

A vous, mes parents, les deux piliers de ma vie, ma raison d'être, si je suis arrivée là aujourd'hui c'est grâce à vos sacrifices, à votre amour, et à votre soutien. Je vous doisce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester votre fierté et ne jamais vous décevoir, Vous êtes les meilleurs parents du monde. Je vous aime plus que tout !

A mon cher frère Zinou, merci d'être toujours à mes côtés.

A mes adorables petites sœurs Israa et Alaa qui font une partie de mon bonheur je ne saurai imaginer une vie sans vous. Vous êtes les prunelles de mes yeux.

A mon fiancé Redha, merci pour tout ce que vous aviez fait!

A ma belle-famille, je ne vous remercierai jamais assez de m'avoir traité comme votre fille.

A ma très chère copine Dounia, merci d'être l'épaule sur laquelle je peux toujours compter. Dans l'espoir que notreamitié soit éternelle.

A tout l'équipe HB vet Dr. Ryma et Dr. Ibtissem, Je suis vraiment chanceuse de vous avoir à mes cotés merci d'être toujours là quand j'ai besoin de vous.

Résumé

Notre travail porte sur l'étude et la mise en évidence de l'activité antifongique de l'huile essentielle du clou de girofle extraite par hydro distillation à partir des boutons séchés et dont le rendement obtenu était de ***9%****. L'activité antifongique a été mise en évidence par la méthode de contact direct vis-à-vis de deux espèces de Fusarium : Fusarium oxysporum fsp lycopersici (souche de référence 4287) (FOL) et Fusarium oxysporum fsp radicis lycopersici (isolat algérien) (FORL). Nous avons préparé quatre concentrations de l'huile essentielle à savoir* ***: 10, 15, 20 et 25 µl/100ml.***

Les résultats de nos travaux sont comme suit : l'huile essentielle de clou de girofle possède une activité inhibitrice sur le Fusarium oxysporum fsp radicis lycopersici dont les taux d'inhibition sont de: ***53.9%*** *à* ***10 µl/100ml****,****76.31%*** *à* ***15µl/100ml****,****78.94%*** *à* ***20µl/100ml*** *et* ***86.84%*** *à* ***25µl/100ml****. La croissance mycélienne de Fusarium oxysporum fsp lycopersici est totalement inhibée par le clou de girofle à une concentration de* ***25µl/100ml****, l'action des concentrations* ***20,15*** *et* ***10 µl/100ml*** *de l'huile essentielle testées a permis d'avoir des taux d'inhibition allant respectivement de* ***86.66, 84*** *et* ***33.33%.***

Les résultats obtenus dans ce présent travail démontre que l'huile essentielle du clou de girofle possède un pourvoir antifongique important vis-à-vis des souches étudiées, rendant ainsi l'utilisation des huiles essentielles, une piste intéressante dans la lutte biologique contre les champignons afin de réduire leurimpact.

Mots clés *: Huile essentielle du clou de girofle ; Activité antifongique ; Fusarium oxysporum fsp lycopersici ; Fusarium oxysporum fsp radicis lycopersici.*

Abstract

Our work focuses on to study and the demonstrate of the antifungal activity of clove essential oil extracted by hydro distillation from dried buds and whose yield was 9%. The antifungal activity was demonstrated by « the direct contact method » against two strains of Fusarium: Fusarium oxysporum fsp lycopersici (reference strain 4287) (FOL) and Fusarium oxysporum fsp radicis lycopersici (Algerian isolate) (FORL). We have prepared four concentrations of the essential oil: ***10, 15,20*** *and* ***25 µl/100ml****.*

The results of our work are as follows: clove essential oil has an inhibitory activity on Fusarium oxysporum fsp radicis lycopersici whose inhibition rates are: ***53.9%*** *at* ***10 µl/100ml****,* ***76.31%*** *at* ***15µl/100ml****,* ***78.94%****at* ***20µl/100ml*** *and* ***86.84%****at* ***25µl/100ml****. The mycelial growth of Fusarium oxysporum fsp lycopersici is completely inhibited by cloves at a concentration of* ***25 µl/100ml****,the action of the concentrations* ***20.15*** *and* ***10 µl/100ml*** *of the essential oil tested made it possible to have rates of inhibition ranging respectively from* ***86.66, 84*** *and* ***33.33%.***

The results obtained in this present work demonstrate that the essential oil of clove has a significant antifungal power vis-à-vis the strains studied, thus making the use of essential oils an interesting avenue in the biological fight against fungi to reduce their impact.

Key words*:Clove oil; Antifungal activity; Fusarium oxysporum fsp lycopersici; Fusarium oxysporum fsp radicis lycopersici.*

ملخص

يهدف عملنا إلى دراسة وإثبات النشاط المضاد للفطريات للزيت العطري للقرنفل المستخرج بالتقطير المائي من البراعم المجففة بمردود *9٪.*

تم توضيح الفعالية المضادة للفطريات من خلال طريقة الاتصال المباشر ضد *Fusarium: Fusarium oxysporum fsp.lycopersi*سلالة مرجعية *4287 (FOL)* و*Fusarium oxysporum fsp radicis lycopersici* عزلة جزائرية *.(FORL)* قمنا بإعداد أربع تراكيز من الزيت العطري وهي: *10* ، *15* ، *20* و *25* ميكرولتر/ *100* مل.نتائج عملنا هي كما يلي: زيت القرنفل الأساسي له نشاط مثبط على*Fusarium oxysporum fsp radicis lycopersici* الذي تبلغ معدلات تثبيطه: *53.9٪* عند *10* ميكرولتر/ *100* مل ، *76.31%*عند *15* ميكرولتر/ *100* مل ،*78.94%* عند *20* ميكرولتر/ *100* مل و*86.84%* عند *25* ميكرولتر/ *100* مل. تم تثبيط النمو الفطري لـ *Fusarium oxysporum fsp lycopersici*تما م ا بواسطة القرنفل بتركيز *25* ميكرولتر / *100* مل ، وعمل التراكيز *20.15* و *10* ميكرولتر / *100* مل من الزيت العطري الذي تم اختباره جعل من الممكن الحصول على معدلات تثبيط نتراوح على التوالي من *86.66* ،*84* و*33.33٪*.تظهر النتائج التي تم الحصول عليها في هذا العمل الحالي أن الزيت العطري للقرنفل له قوة كبيرة مضادة للفطريات مقابل السلالات المدروسة ، مما يجعل استخدام الزيوت الأساسية وسيلة مثيرة للاهتمام في المعركة البيولوجية ضد الفطريات.للتقليل من تأثيرها.

الكلمات الرئيسية: زيت عطري ؛ نشاط مضاد القرنفل ؛ *oxysporum fsp lycopersici* ؛ *fusarium oxysporum fsp radicis lycopersic*

Table des

Résumés
Liste des abréviations
Liste des tableaux
Liste des figures

INTRODUCTION GENERALE

Revue de la littérature

Chapitre I : L'huile essentielle du clou de girofle..... 3-7

I. Généralité sur les huiles essentielles : 3

1.1 Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles 3

1 1.1 Propriétés physiques 3

1.1.2 La composition chimique des huiles essentielles 4

1.2 Mode d'action des huiles essentielles 4

II. Généralité sur l'huile essentielle de clou de girofle 5

2.1 Classification 6

2.2 Principales utilisation du girofle 6

2 2.1 Activité antibactérienne 6

2 2.2 Activité antifongique 7

2 2.3 Activité antivirale 7

2 2.4 Activité anti inflammatoire 7

2 2.5 Soin buccal 7

2 2.6 Effet digestif 7

2 2.7 Autres utilisations 8

Chapitre II: Le genre Fusarium, revue de la littérature..... 8-22

I. Introduction 9

II. Généralité sur les fongiques 9

III. Le genre Fusarium 9

3.1 Aspects Morphologiques 10

3.2 Classification 11

Table des

3.3 Localisation et distribution 12

IV. Pathogénicité de Fusarium 13

4.1 Pathogénicité pour l'homme et l'animal 14

4.2 Pathogénicité pour les végétaux 15

4.2.1 La fusariose 15

4.2.2 La pourriture des racines et du collet (Fusarium crown and root rot)16

V. Voies d'absorption des mycotoxines chez l'homme et l'animal 20

VI. Les fusariotoxines 21

VII. Fusarium oxysporum 22

7.1 Caractères microscopiques 22

7.2 La pathogénicité de Fusarium oxysporum 23

Réalisations Expérimentales

I. Matériels et Méthodes 25

1.1 Produits biologiques 25

1.2 Souches fongiques 25

1.3 Extraction de l'huile essentielle de Syzygium aromaticum 25

1.3.1 Calcul du rendement d'extraction en huile essentielle 26

1.4 Etude de l'activité antifongique de l'huile essentielle de clou de girofle26

1.4.1 Culture des champignons 26

1.4.2 Evaluation de l'activité antifongique 26

II. Résultats et discussions 28

2.1 Extraction de l'huile essentielle du clou de girofle 28

2.1.1 Rendement de l'extraction 28

2.2 Etude de l'activité antifongique de l'huile essentielle de clou de girofle29

Liste des

***°C** : celsius*

***FO** : Fusarium oxysporum*

***FOL** : Fusarium oxysporum fsp lycopersici (souche de référence 4287).*

***FORL** : Fusarium oxysporum fsp radicis lycopersici. (Isolat algérien).*

***HE** : huile essentielle*

***I%** : Taux d'inhibition.*

***mL** : millilitre*

***PDA** : pomme de terre dextrose agar*

***RHE** : Rendement en huile essentielle du clou de girofle. **S** :*

syzgium

Liste des

Tableau 1 *: Classification du clou de girofle (Sophie B., 2015)..... 6*

Tableau 2 *: Classification du genre Fusarium (O'Donnell et al., 2015)..... 11*

Tableau 3 *: Exemples d'espèces de Fusarium phytopathogénes (Aoki et al., 2014 ; Askun., 2018)..... 13*

Tableau 4 *: Toxines sécrétées selon différentes espèces (Placinta et al., 1999).... 20*

Tableau 5 *: Les différentes caractéristiques de l'HE de clou de girofle..... 28*

Tableau 6 *: Résultat du rendement d'HE de clou de girofle..... 28*

Tableau 7 *: Taux d'inhibition de l'huile essentielle de clou de girofle vis à vis de FORL ; Fusarium oxysporum fsp radicis lycopersici (isolat algérien)..... 29*

Tableau 8 *: Taux d'inhibition de l'huile essentielle de clou de girofle vis-à-vis deFOR ; Fusarium oxysporum fsp lycopersici (souche de référence)..... 30*

Liste de

Figure 1 *: clou de girofle 6*

Figure 2 *: Caractères morphologiques primaires de F. graminearum (Aet B : macroconidies, barre d'echelle 25µm) (Leslie J F., 2006) 11*

Figure 3 *: Caractères morphologiques primaires de F. poae, (Aet B : macroconidies ; Cet D : microconidies, barre d'échelle 25µm) (Leslie J F., 2006). 11*

Figure 4 *: Fusariose vasculaire de la tomate (Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici). 18*

Figure 5 *: Jaunissement et flétrissement des feuilles basses (Blancard., 2009). 18*

Figure 6 *: Coloration brune sombre visible en coupe longitudinale (Agrios., 2005). 18*

Figure 7 *: Coloration brune sombre visible en coupe transversale (Blancard., 2009). 19*

Figure 8 *: Chancre brun foncé du collet (Blancard., 2009). 19*

Figure 9 *: Brunissement des vaisseaux des parties basses de la tige 5 Blancard., 2009). 19*

Figure 10 *: Système racinaire réduit et pourri (Blancard., 2009). 20*

Figure 11 *: Observation microscopique de l'espèce Fusarium oxysporium. 23*

Figure 12 *: Observation microscopique de l'espèce Fusarium oxysporium. 23*

Figure 13 *: Les taux d'inhibition de cl'HE du clou de girofle vis-à-vis de Fusarium oxysporum fsp lycopercisi (FOL) et Fusarium oxysporum fsp radicislycopercisi (FORL). 30*

Revue de la littérature

Introduction générale

L'agriculture constitue la base de l'économie de nombreux pays. Malheureusement celle-ci est soumise à plusieurs contraintes, essentiellement d'ordre abiotique et biotique. Les producteurs sont confrontés à diverses maladies qui s'attaquent aux cultures, La majorité des maladies des plantes sont causées par les champignons telluriques, largement distribués dans le sol, provoquant la pourriture des cultures aussi ils endommagent de nombreuses espèces d'arbres forestiers. À l'instar des autres pays, les maladies dues aux champignons telluriques sont rencontrées en Algérie et dans le monde entier, entre autre les fusarioses qui affectent diverses cultures ***(Belabid P et al., 2004)****.*

Il existe de nombreuses espèces de Fusarium, seulement certaines sont pathogènes et/ou sont susceptibles de produire des mycotoxines(fusariotoxines en l'occurrence), posant problèmes en agriculture, en médecine humaine et en industrie agroalimentaire. Les espèces du genre Fusarium peuvent ainsi attaquer les céréales (maïs, blé, orge, avoine), les légumes, les plantes ornementales et beaucoup d'arbres fruitiers. La majorité des espèces de Fusarium produisent des mycotoxines et sont ainsi impliquées dans des intoxications chez les animaux d'élevage.

En raison des conséquences dévastatrices engendrées par l'utilisation excessive des produits chimiques dans la lutte contre les pathogènes, il est plus que nécessaire de rechercher des moyens de lutte biologiques alternatifs.

Depuis longtemps, les populations humaines utilisent les éléments de leur environnement, en particulier les plantes, afin de traiter et de soigner toutes sortes de maladies touchant les plantes, l'homme et l'animal, cette pratique est à l'origine de ce que l'on appelle aujourd'hui la phytothérapie et l'aromathérapie ***(Bruneton J et al., 1999).***

A cet égard, les huiles essentielles représentent des molécules au potentiel thérapeutique intéressant, de par leurs propriétés biologiques mises en évidence à savoir antifongique.

Pour cet intérêt, les huiles essentielles considérées comme des substances naturelles bioactives représentent une piste intéressante dans la découverte de nouvelles molécules thérapeutiques et une éventuelle alternative aux produits chimiques.

Tout cela nous a dicté l'objectif du présent travail qui est d'évaluer l'activité antifongique de l'huile essentielle du clou de girofle vis-à-vis de deux souchesfongiques ; Fusarium oxysporum fsp radicis lycopersici (isolat algérien) et Fusarium oxysporum fsp lycopersici (souche de référence 4257).

Ce présent travail se présente en deux parties distinctes mais d'égale importance, la première partie est une revue de la bibliographie qui reprend des informations sur l'huile essentielle du clou de girofle et l'aspect général des champignons du genre Fusarium. La deuxième partie comprend notre étude expérimentale à savoir : l'extraction de l'huile essentielle du clou de girofle ainsi que l'étude de son potentiel antifongique.

Chapitre1 :L'huile essentielle de clou de girofle

I. Généralité sur les huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont des substances naturelles, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première. Les HE sont des produits odorants, volatils du métabolisme secondaire d'une plante aromatique. Elles sont appelées substances volatiles du fait qu'elless'évaporent à l'air libre sous l'action de la température. Elles sont dénommées huiles aromatiques, du fait qu'elles dégagent une odeur le plus souvent agréable, elles sont appelées aussi huiles éthyliques de par leur solubilité dans l'éther.

Les huiles essentielles se trouvent dans plus de 2000 espèces végétales, représentées par 60 familles, dont les plus importantes sont : Lauracées, Labiées, Rosacées, Ombellifères, Rutacées, Cupressacées, Opiacées, Abiétacées ***(Sebai M et al., 2012 ; Toumi- Benali F., 2009).***

En pratique, il est possible d'obtenir une HE à partir de la plante entière ou bien à partir de certaines parties de la plante telles que les fleurs, les bourgeons, les grains, les feuilles, les bois, les racines, les tiges et les brindilles ***(Brenes A., 2010).***

1.1 Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

1.1.1 Propriétés physiques

Les huiles essentielles ont des caractéristiques physiques communes, qui peuvent cependant varier en fonction de leur composition chimique :

- *Les huiles essentielles sont des substances volatiles et non des corps gras. Leur volatilité augmente avec la chaleur. Ce caractère les différencie aussi des huiles végétales grasses ou « fixes »* ***(KaloustianJ et al., 2012).***
- *Les huiles essentielles sont liquides à température ambiante* ***(Pierron C., 2014).***

- *Elles sont très solubles dans les huiles grasses (meilleurs solvants), etsolubles dans l'alcool à titre élevé, les graisses, l'éther et la plupart des solvants organiques, leur consistance est huileuse mais non grasse* ***(Franchomme et al., 2001).***
- *Leurs couleurs sont variées, beaucoup sont jaunâtres ou incolores mais les couleurs peuvent aller du jaune vert au brun rouge. Elles sont très odorantes* ***(Chabert, 2013 ; Couderc V L., 2011).***
- *Leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau,* ***(Nedjai I et al., 2017).***
- *Elles ont un indice de réfraction élevé* ***(Benkeblia N, 2004).***

1.1.2 La composition chimique des huiles essentielles

Elles ne contiennent aucun corps gras, les huiles essentielles sont composées uniquement de molécules aromatiques et volatiles dont leurs principaux composants peuvent être répartis en deux classes : les ***terpénoïdes*** *et les* ***phénylpropanoïdes (BUCHANAN et al., 2000).***

L'étude de la composition chimique est généralement effectuée par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) ***(SALZER, 1977).***

1.2 Mode d'action des huiles essentielles

Le mode d'action des huiles essentielles sur les pathogènes ne fait pas encore l'unanimité au sein de la communauté scientifique ***(Kalemba et al.,2003 ; Burt S A., 2004)****.*

L'action des huiles essentielles peut se résumer de manière générale en troisphases principales:

- *Attaque de la paroi bactérienne : en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne* ***(Sikkema etal., 1994)****. Cela induit une fuite d'ions (K+) suite à une perturbation chimio-osmotique ce qui est à l'origine d'une augmentation de la*

perméabilité puis de la perte des constituants cellulaires ***(Cox S et al,2000 ; Souza E.L., et al., 2006).***

- *Acidification de l'intérieur de la cellule : une fois l'huile essentielle pénètre dans la cellule, elle va acidifier le milieu. En outre, elle bloque la production de l'énergie cellulaire ainsi que la synthèse des composants de structure. Certains composés phénoliques des huiles essentielles interfèrent avec les protéines de la membrane des micro- organismes comme l'enzyme* AT_{Pase}*, soit par action directe sur la partiehydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP.* ***(Knobloch K et al., 1989 ; Sikkema J et al,. 1995) .***

- *Destruction du matériel génétique : les huiles essentielles peuventaussi inhiber la synthèse de l'ADN de l'ARN, des protéines et des polysaccharides* ***(Malecky M., 2007).***

- *L'activité inhibitrice des huiles essentielles serait due à leur affinitéavec les groupements SH impliqués dans la division cellulaire.* ***(Malecky M., 2007).***

II. Généralité sur l'huile essentielle de clou de girofle

Le clou de girofle (figure1) provient d'une plante appelée giroflier (Syzgium aromaticum) qui est un arbre tropical. La principale production de giroflier provient de l'Indonésie et de Madagascar.

Chaque bouton floral de cette plante est un clou de girofle ***(Sophie B., 2015).***

Figure 1 : clou de girofle

2.1 Classification

Tableau 1 : Classification du clou de girofle (Sophie B., 2015)

Règne	***Plante***
Classe	*Angiosperme*
Sous-classe	*Tiporées*
Ordre	*Myrtales*
Famille	*Myrtaceae*
Genre	*Syzgium*
Espèce	*Syzgium aromaticum*

2.2 Principales utilisation du girofle

2.2.1 Activité antibactérienne

Singh A K et al., 2009 *ont étudié l'effet de l'eugénol, composant principal de l'huile essentielle du clou de girofle. Son efficacité a été démontrée aussi bien contre les bactéries gram positives (Bacillus cereus ; B. subtilis ; Staphylococcus aureus) et gram négatives (Escherichia coli ; Salmonella typhi) en utilisant la méthode de diffusion en milieu gélosé. À 1 000 ppm, l'eugénol inhibe la croissance de toutes ces bactéries.*

2.2.2 Activité antifongique

De nombreuses études ont été réalisées et ont démontré que l'huile essentielle du clou de girofle présente un pouvoir antifongique.

L'huile essentielle du clou de girofle possède une puissante activité antifongique contre les pathogènes fongiques opportunistes, comme le Candida albicans ***(Goetz P et al., 2012).***

2.2.3 Activité antivirale

L'huile essentielle de S. aromaticum possède une forte activité antivirale. Elleinhibe notamment la réplication des virus Herpès simplex de type 1 et 2 et peut détruire leur enveloppe lipidique ***(Goetz P et al, 2012).***

2.2.4 Activité anti inflammatoire

L'eugénol a un effet inhibiteur sur la synthèse de l'enzyme pro-inflammatoire cyclooxygénase-2 (COX-2). En outre, il inhibe la production de plusieurs marqueurs inflammatoires tels que et les prostaglandines et la molécule d'adhésion cellulaire vasculaire-1 (VCAM-1) ***(Goetz P et al, 2012).***

2.2.5 Soin buccal

L'HE du clou de girofle soulage les rages dentaires de par son effet analgésique. Certaines études ont également démontré son action dans le cas de métastases intra maxillaires et de sarcomes. ***(Morin J et al., 1983).***

2.2.6 Effet digestif

Le clou de girofle est une épice aux vertus puissantes, notamment sur le système digestif. Il favorise la restauration du microbiote intestinal induisant ainsi un confort digestif. Cette huile essentielle se consomme en infusion pour lutter contre les ballonnements et maux de ventre. Elle stimule aussi la synthèse du mucus gastrique.

2.2.7 Autres utilisations

Les clous de girofle entiers, mais aussi en poudre, servent à aromatiser les conserves de légumes, le chou rouge, les compotes de pommes et autres fruits ***(Georgetti S.R., et al., 2003).***

L'eugénol présente également des effets inhibiteurs sur la biosynthèse de la thromboxane ***(Laekeman S M et al., 1990)*** *et d'autres propriétés de neuroprotection* ***(Wie M B et al.,1997****), des effets anti-ischémiques* ***(Atsusane T., 1991)****, anti-histaminiques* ***(Nishijima H et al.,1998)*** *et anti-anaphylactiques* ***(Jadhav B K et al., 2004).***

Chapitre II : le genre Fusarium, revue littérature

I. Introduction

Il existe de nombreuses espèces de Fusarium, dont certaines sont pathogènes. Elles sont responsables de la production de mycotoxines (fusariotoxines) induisant des problèmes dramatiques en agriculture ainsi qu'en médecine humaine et pour l'industrie agroalimentaire si la prise en charge est tardive.

II. Généralité sur les fongiques

Les champignons représentent l'un des plus importants groupes d'organismes sur terre et jouent un rôle fondamental dans un grand nombre d'écosystèmes. Ils sont des organismes eucaryotes à mode de reproduction sexuée ou asexuée comme la sporulation.

Les spores produites sont la forme de résistance des champignons lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables, elles peuvent avoir un rôle dans leurs dispersion dans l'atmosphère ***(Madelin T M., 1994).***

Ces organismes se nourrissent par l'intermédiaire de leur organe végétatif appelé mycélium constitué de fins filaments. Les champignons sontdépourvus de chlorophylle et sont tous hétérotrophes, ils ne peuvent pas faire de photosynthèse ***(Carlile M J., 1994 ; Redecker D., 2002).***

III. Le genre Fusarium

On distingue plusieurs espèces de Fusarium qui sont omniprésentes et peuvent être trouvées dans le sol, dans l'air et sur les plantes. Les espèces de Fusarium sont des champignons filamenteux et cosmopolites, comprenant des pathogènes opportunistes infectant les plantes du monde entier, mais pouvant également se développer en tant que saprophytes dans diverses zones climatiques ***(Stępień L et al., 2019)****.*

Le Fusarium exige des conditions humides : il se développe même dans del'eau stagnante souillée telle que celle trouvée dans les réservoirs des humidificateurs.

Il est surtout connu comme étant associé aux récoltes de céréales et à la poussière de grains (seigle, orge, maïs, avoine, blé et sarrasin), certaines espèces de Fusarium, telles que le F. solani, sont souvent associées aux céréales ou à d'autres cultures spécifiques; par conséquent, ces espèces sontplus souvent trouvées dans des régions rurales que dans d'autres milieux ***(Marie-Alix d'Halewyn., 2022).***

Certaines sont phytopathogénes, les mycotoxines produites par le genre Fusarium constituent l'une des principales composantes de sa virulence telle que la déoxynivalénol (DON) produite par le F. graminearum contaminant les denrées alimentaires et provoquant ainsi des maladies graves chez les animaux et parfois chez l'homme qui les consomment ***(Chabasse D et al., 2002 ; Stępień L et al., 2019).***

3.1 Aspects Morphologiques

*Les champignons du genre Fusarium appartiennent aux hyalo-hyphomycètes et présentent un mycélium septé et incolore. Les Fusarium sont caractérisés par trois types de spores (Figure 2 et 3) (****Jeunot B., 2005; Leslie J F., 2006 ; Nelson P E et al., 1994)*** *:*

- ***les macroconidies*** *; fusiformes et cloisonnées. Leur présence est la caractéristique majeure qui permet de distinguer le genre Fusarium desautres genres. Les différentes formes des macroconidies, leur taille ainsi que les extrémités apicales et basales (arrondies, crochetées, effilées, crantées) sont des éléments indispensables pour l'identification des espèces de Fusarium. Elles permettent la différenciation avec d'autres espèces proches..*
- ***les microconidies*** *; petites, septées ou non (0 ou 1 septum, parfois 2 septa pour certaines espèces). Leurs formes sont diverses : fusiformes, ovoïdes, en forme de poire (piriforme) ou de rein. Elles ne sont pas produites par toutes les espèces de Fusarium.*
- ***les chlamydospores*** *; elles ne sont pas présentes chez toutes les*

espèces. Elles sont formées seules, doublées, en bouquet ou en chaîne. Elles sont terminales ou intercalaires et différenciées par le mycélium ou par les conidies.

Lors de leur croissance sur boîte de Pétri, les espèces du genre Fusariumforment des colonies cotonneuses, de couleur variable (blanc, rouge, pourpre…) selon les espèces.

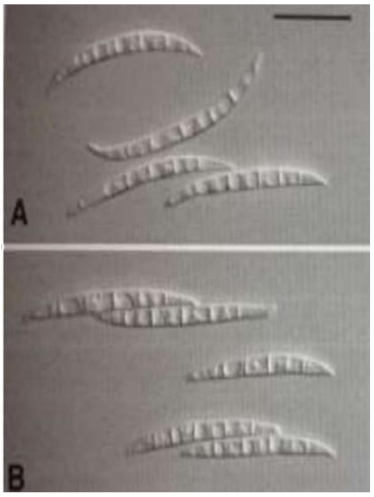

Figure 2 : *Caractères morphologiques primaires de F. graminearum (Aet B : macroconidies, barre d'echelle 25µm) (Leslie J F., 2006)*

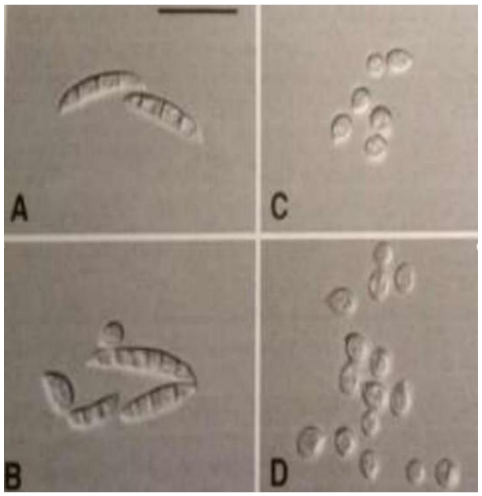

Figure 3 : *Caractères morphologiques primaires de F. poae, (Aet B : macroconidies ; Cet D : microconidies, barre d'échelle 25µm) (Leslie J F., 2006).*

3.2 Classification

Le genre Fusarium a été décrit pour la première fois en 1809. Au cours des 100 années suivantes, plus de 1000 espèces on été décrites.

Tableau 2 : *Classification du genre Fusarium (O'Donnell et al., 2015).*

Phylum	*Ascomycota*
Classe	*Pezizomycotina*
Ordre	*Hypocreales*
Famille	*Nectriaceae*
Genre	*Fusarium*

Les Fusarium sont classifiés en deux types selon leur forme reproductrice ***(Leslie J F., 2006)*** *:*

- la forme reproductrice asexuée est alors dite « Anamorphe »,

- la forme reproductrice sexuée est dite « Téléomorphe ».

Le genre Fusarium représente la forme anamorphe ou asexuée (infection par les macroconidies) et le genre Gibberella représente la forme téléomorphe ousexuée du champignon (infection par les ascospores). Pour plusieurs espèces de ce genre, le stade sexué demeure inconnu. Le principal caractère distinctif des Fusarium est la présence de phialides, des cellules conidiogènesqui donnent naissance aux micro- et macroconidies fusiformes et cloisonnées ***(Burgess L W et al. , 1994)****.*

3.3 Localisation et distribution

Les moisissures de ce genre sont largement présentes dans notre environnement, elles peuvent être observées sur presque l'ensemble de la surface du globe.

Les variables climatiques à savoir les précipitations, l'humidité du sol et de

l'air, l'ensoleillement et la température sont autant de facteurs impactant le développement des Fusarium, chaque espèce nécessite des conditions environnementales optimales pour sa croissance et sa reproduction. Cependant, ils peuvent être retrouvés aussi bien dans des zones tempérées que dans des régions froides, tropicales ou subtropicales. Les concentrations extérieures de Fusarium aéroporté atteignent leur maximum pendant la saison estivale. La dissémination des spores de Fusarium se fait principalement par la dispersion des spores humides par l'entremise des éclaboussures d'eau, des insectes ou du vent ***(Smith J E., 1985)****.*

Ces moisissures peuvent être isolées dans la plupart des sols, des racines et dans les eaux, comme par exemple, dans les réseaux d'adduction urbains. Certaines études ont d'ailleurs montré la présence d'espèces de Fusarium dans les circuits d'eau de certains CHU (Centre hospitalier universitaire) comme à Dijon et à Nancy ***(Sautour Met al., 2015).***

La distribution et la prédominance de ces espèces pathogènes sont déterminées par la plante-hôte, la région et les conditions climatiques (température, humidité, durée, intensité d'ensoleillement, photopériode, pression atmosphérique…).

En effet, l'émergence d'une espèce ou d'une autre dépend des conditions climatiques. En raison de l'évolution climatique mondiale aujourd'hui, il est possible que des espèces émergent dans des régions où elles n'étaient pas ou peu retrouvées précédemment. Ce phénomène suit le principe de la dynamique des populations.

Une fois, l'agent pathogène forme son mycélium sur la plantes infectée et libère ses conidies, ces dernières peuvent être transportées par le vent et/ou la pluie jusqu'à atteindre toute la partie de la plante ***(Jeunot B., 2005 ; Nasraoui B ,2008 ; Stępień L et al., 2019).***

IV. Pathogénicité de Fusarium

De nombreuses espèces de Fusarium sont saprophytes mais peuvent être des parasites ou des agents pathogènes de plantes en infectant les fruits, légumes, les céréales et les semences telles que Fusarium oxysporum, F.

solani, F. proliferatum…etc ***(Aoki T et al., 2014; Askun T., 2018).***

Certaines espèces de Fusarium sont phytopathogénes elles sont surtout connues en tant que productrices de puissantes et dangereuses mycotoxines ***(Walker S L et al. 2001)****.*

Les principales mycotoxines retrouvées dans les céréales sont:

- ***Le désoxynivalénol (DON)****, ou* ***vomitoxine****, elle appartient à la famille des tricothécènes et constitue la toxine la plus présente dans les grains. Elle provoque des nausées et vomissements.*
- ***Le nivalénol (NIV)*** *appartenant aussi à la famille des tricothécènes et provoque les mêmes effets que le DON.*
- ***La zéaralénone (ZEA)*** *est une mycotoxine œstrogène, trouvée en faible quantité et provoque des problèmes de reproduction comme l'infertilité et l'avortement spontané chez le porc.*

Tableau 3 : *Exemples d'espèces de Fusarium phytopathogénes (Aoki T et al., 2014 ; Askun T., 2018).*

Espèce végétale hôte	***Espèces de Fusarium phytopathogénes***
Banane	*F. oxysporum, f. sp. Cubense*
Coton	*F. oxysporum, f. sp. Vasinfectum*
Légumes	*F. avenaceum, F. oxysporum et F. solani*
Maïs	*F. graminearum, F. proliferatum, F. subglutinans, F.verticillioides*
Riz	*F. fujikuroi*
Blé, orge, avoine	*F. culmorum, F. graminearum et F.pseudograminearum*

4.1 Pathogénicité pour l'homme et l'animal

Les espèces du genre Fusarium peuvent toucher l'homme, ainsi que lesanimaux.

F. oxysporum et F. solani sont les deux espèces majoritairement impliquées dans les pathologies humaines et animales, bien que beaucoup d'autres espèces soient également isolées ***(Ripert C., 2013)****.*

La fusariose est une maladie mortelle et cryptogamique causé par les champignons du genre Fusarium qui sont considérés comme des agents fongiques opportunistes émergents chez les patients immunodéprimés. Ils sont responsables de cette dernière, dont le taux de mortalité peut atteindre près de 70% ***(Leslie J F., 2006)****.*

Les infections sont parfois sévères et invasives, même chez les animaux immunocompétents. En effet, il a été démontré que F. solani est un pathogène virulent chez les souris immunocompétentes, provoquant 100% demortalité sur cinq lots de 20 souris testées ***(Brown D W et al., 2013; MayayoE et al., 1999)****.*

Les effets chez l'homme sont multiples. Bien que rares, les infections à Fusarium retrouvées chez les immunocompétents sont principalement des pathologies superficielles comme des kératites, des onyxis des mains ou des pieds avec ou sans périonyxis, ou, plus rarement, des mycétomes.

Les patients immunodéprimés sont touchés par des infections invasives et disséminées à Fusarium. Plusieurs pathologies peuvent être causé par cette dernière telles que : des endocardites, des péritonites, des arthrites et des abcès cérébraux ***(Brown D W et al., 2013 ; Bullock J D et al., 2010 ; GangneuxJ P., 2008 ; Ripert C., 2013)****.*

4.2 Pathogénicité pour les végétaux

Les infections à Fusarium entraînent des maladies dangereuses avec un impact sanitaire et économique non négligeable. Ainsi, en 2011, il est estimé qu'il a entraîné une perte de 2,7 milliards de dollars dans les états du centre et du nord des USA ***(Gautam P., 2011).***

Les Fusarium touchent aussi bien le règne végétal que le règne animal. Les effets sont divers selon l'espèce affectée et peuvent être directs ou indirects.

4.2.1 La fusariose

*C'est l'une des maladies les plus nuisibles causée par des champignons du genre Fusarium qui attaquent de nombreuses plantes. Les infections à Fusarium sont communément nommées par le terme générique « fusarioses
». Cette maladie des céréales est omniprésente.*

Ces agents pathogènes attaquent tous les organes végétatifs et reproducteurs des plantes ***(Gargouri S., 2003)****. L'impact de la maladie sur la plante se manifeste de deux manières :*

- *Soit en empêchant les nutriments ainsi que l'eau d'atteindre le grain dégradant ainsi la tige.*

- *soit par affaiblissement du tissu des plantes entraînant donc une mauvaise récolte.*

La contamination des plantes peut être scindée en deux types :

- ***Endogène*** *: si la semence est infectée avant la plantation ; L'infection est d'autant plus importante que les Fusarium sont capables de produire des composés volatils qui attirent les oiseaux ou les insectes, qui vont ensuite disséminer les spores et attaquer physiquement la plante, facilitant sa colonisation.*
- ***Exogène*** *: si l'infection se fait à partir du sol ou d'un vecteur naturel :*
  - *Origine biotique : insecte transportant des spores ;*
  - *Origine non biotique : vent, pluie… qui permettent l'émergence des spores.*

Cette maladie peut causer d'immenses pertes au niveau des récoltes et/ou une diminution de leur qualité.

Il existe des traitements fongicides azolés, tels que le Prothioconazole, possédant une activité locale et permettant de diminuer la fusariose et la production associée de la mycotoxine DON ***(McMullen M P., 2011)****.*

4.2.2 La pourriture des racines et du collet (Fusarium crown and root rot)

Cette maladie a été détectée pour la première fois au Japon en1969 ***(Sato R***

et al., 1974 ; Yamamoto W et al., 1974).

Cette pathologie dévastatrice de la tomate ***(figure 09, 10, 11, 12)*** *est causéepar le F. oxysporum* ***(Sato R et et al., 1974 ; Yamamoto W et al., 1974),*** *elle fut aussi observée au nord de l'Amérique* ***(Leary J V et al., 1971 ; Jarvis W., 1988),*** *et en Turquie en 1998* ***(Can C et al., 2004),*** *la maladie fut aussi signalée en Italie à Albugo en 1984* ***(Tamietti J et al., 1986),*** *elle fut également signalée enTunisie en 2001* ***(Hajlaoui M R et al.,2001)****.*

Cette maladie se caractérise par une longue période d'incubation. En effet, lorsque l'infection se produit après la plantation, les symptômes externes apparaissent au moment de la récolte.

Cependant, si l'infection se produit durant la production des plantules, la maladie se manifeste pendant la floraison ***(Ślusarski C., 2000).***

*Cette maladie est favorisée par une température des sols qui avoisine les 18°C (****Sato R., 1974; Yamamoto W et al., 1974; Jarvis W 1988 ; Sonoda R M., 1976; Kim J T et al., 2001)*** *provoquant des flétrissements plus ou moins importants sur les folioles du sommet de la tige où la tige est fortement amincie. En fonction des plantes, ces flétrissements peuvent être dans un premier temps réversibles.*

Les flétrissements peuvent être soudains, peuvent également évoluer très rapidement vers la nécrose, le desséchement des feuilles et des folioles et peuvent aussi conduire à la mort des plantes. Parfois, nous observons l'apparition de jaunissements foliaires situés à la périphérie du limbe des vieilles feuilles. Ceux-ci sont suivis de la nécrose des pétioles et de la chute des feuilles.

Si les plantes sont affectées précocement, une croissance réduite ainsi qu'une altération du système racinaire sont observée.

Les symptômes primaires sont à rechercher sur les racines et le collet des plantes. Sur les racines apparaissent de nombreuses lésions de couleur brunes rougeâtres, humides, évoluant rapidement en pourriture. Plus le diamètre des racines est faible, plus celles-ci pourrissent et se décomposent rapidement et les tissus vasculaires sont fortement brunis ***(Blancard D., 2009)****.*

Du point de vue économiques et malgré la présence de certaines variétés résistantes, cette maladie est toujours redoutée et affecte à la fois les cultures sous serre et les cultures en plein champs ***(Jones J P et al., 1991 ; Kamilova F et al., 2006)***.

Les plantes gravement atteintes peuvent mourir ou produisent peu de fruits etde qualité médiocre, elles peuvent être également la cible de pathogènes secondaires ***(Steinkellner S et al., 2005)***.

Figure 4 : *Fusariose vasculaire de la tomate (Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici).*

Figure 5 : *Jaunissement et flétrissement des feuilles basses (Blancard., 2009).*

Figure 6 : *Coloration brune sombre visible en coupe longitudinale (Agrios., 2005).*

Figure 7 : *Coloration brune sombre visible en coupe transversale (Blancard., 2009).*

Figure 8 : *Chancre brun foncé du collet (Blancard., 2009).*

Figure 9 : *Brunissement des vaisseaux des parties basses de la tige 5 Blancard., 2009).*

Figure 10 : *Système racinaire réduit et pourri (Blancard., 2009).*

V. Voies d'absorption des mycotoxines chez l'homme et l'animal

Dans les infections à toxines de Fusarium, trois voies d'absorption sont majoritairement impliquées : l'inhalation, l'ingestion d'aliments contaminés ou, plus rarement, le contact en cas de plaie.

En effet, la voie aéroportée est la principale et elle est considérée presque comme la seule cause de contamination. Des études montrent que les mycotoxines sont des facteurs déclenchant ou aggravant d'alvéolites allergiques, de fièvres d'inhalation, de cancers broncho-pulmonaires, hépatiques et rénaux…

L'activité physiopathologique des mycotoxines de Fusarium à l'instar des autres micro-organismes dépend de multiples facteurs, susceptibles de modifier ou de potentialiser leurs effets dont celui de la nature chimique, de la concentration en mycotoxines, de la durée d'exposition et de la sensibilité individuelle ou de l'espèce ***(Pinel C et al., 1998)****.*

Lors de l'absorption de particules organiques et de poussières contaminées par des mycotoxines, ces dernières sont alors solubles dans l'eau pulmonairedes alvéoles et passent dans la circulation sanguine.

Par exemple, lors des récoltes, les poussières de maïs infestées peuvent être inhalées en sortie de moissonneuse batteuse. Il est à noter que le risque de contamination par inhalation dans leur milieu de travail prédomine.

VI. Les fusariotoxines

Les poisons fongiques produits par les moisissures du genre Fusarium sont multiples et variés et ils sont regroupés sous le terme de fusariotoxines.

Les formes et familles identifiées aujourd'hui sont les trichothécènes, les fumonisines, la zéaralénone, la moniliformine, la beauvericine et l'équisétine. Leurs plante hôte est les céréales et, par en conséquence, les produits qui endérivent.

En Europe, les fusariotoxines : les trichothécènes, les fumonisines et la zéaralénone sont les plus majoritairement impliquées dans les pathologies animales et humaines, elles provoquent ainsi la baisse de productivité, ***(Placinta C M et al., 1999)****. Elles sont sécrétées par diverses espèces (Tableau 4).*

Tableau 4 : *Toxines sécrétées selon différentes espèces (Placinta et al., 1999).*

Espèce	***Toxines***
F. graminearum	*Trichothécènes B (DON, NIV et dérivés acétylés),zéaralénoneF*
F. poae	*trichothécènes B (NIV)Trichothécènes A (T2, HT2)*
F. tricinctum	*Moniliformine, Beauvericine (Trichothécène A)*
F. sporotrichioides	*Trichothécènes A (T2, HT2)*
F. oxysporum	*Fumonisines*
F. langsethiae	*Trichothécène A (T2, HT2)*

VII. Fusarium oxysporum

Le Fusarium oxysporum est l'espèce la plus répandue, elle comporte des formes phytopathgènes les plus fréquentes et les plus importantes de la microflore fongique des sols cultivés, il est responsable de diverses maladies telle que le flétrissement vasculaire ***(Kommedahl T et al., 1988)****.*

*Les caractéristiques morphologiques typiques de F. oxysporum mettent en évidence : la production de microconidies en fausses têtes sur des monophialides courtes portées par les hyphes, la production de chlamydospores et la forme des macroconidies et des microconidies. Des mutations sur un seul gène peuvent modifiés le nombre et la morphologie desmacro- et microconidies formés (****Ohara T et al., 2004 ; Ohara T et Tsuge., 2004).***

L'espèce Fusarium oxysporum peut également être dispersée par les insectes ***(Gillespie D R et al., 1993)*** *et récupérée à partir d'algues marines* ***(Granchinho S C R et al., 2002).***

En effet, les champignons de F. oxysporum sont des agents pathogènes vasculaires provoquant souvent le flétrissement vasculaire, la fonte de semis et les pourritures racinaires ***(Nelson P E et al., 1983)****.*

Ce champignon survit dans le sol en forme de chlamydospores dormantes et immobiles jusqu'à la stimulation de la germination par des substrats organiques ou par des exsudats racinaires. Suite à la germination et si les conditions sont favorables, il y a formation d'un mycélium ***(Agrios G N ., 2005).***

7.1 Caractères microscopiques

Fusarium oxysporum est caractérisée par la présence de macroconidies abondantes, incurvées, avec une cellule basale bien marquée ; ellescontiennent 3 à 5 septa (23 à 54 µm de long sur 3 à 4.5 µm de large) , de microconidies abondantes, fusiformes ou en forme de reins, produites dans de fausses têtes à partir de monophialides courtes , robustes et solitaires (8 à

20 µm de long sur 3à 5 µm de large), de nombreuses chlamydospores produites isolées ou par paire ***(Chabasse D et al., 2002 ; Pitt J I et al., 1997).***

Figure 11 *: Observation microscopique de l'espèce Fusarium oxysporium.*

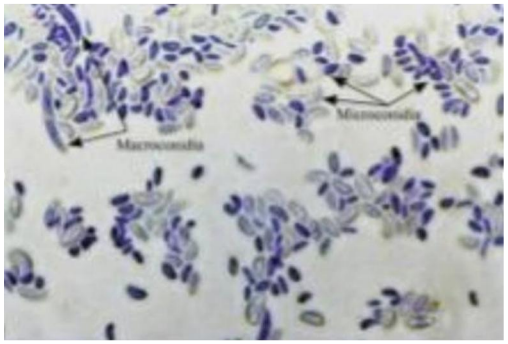

Figure 12 : *Observation microscopique de l'espèce Fusarium oxysporium.*

7.2 La pathogénicité de Fusarium oxysporum

Fusarium oxysporum est un agent pathogène de nombreuses plantes cultivées, y compris la patate douce, le chou, le concombre, le melon, les palmiers dattiers, l'ananas, la tomate, les pois et le coton. Il infecte égalementles céréales, y compris le maïs, le riz et l'orge et les noix comme les arachides, les pacanes, les noisettes et les noix ***(Pitt J I et al ., 2009; Leslie J F., 2006)****. Fusarium oxysporum produit la moniliformine, l'estvéricine et les fumonisinesde type B de type C* ***(Moretti A et al. , 2002 ; Proctor R H et al., 2004 ; PittJ I., 2009)****.*

Le F. oxysporum est souvent à l'origine de multiples pathologies à savoir : la fusariose vasculaire ***(BeckmanC H., 1987 ; Nelson P E., 1981),*** *la fente des semis* ***(Nelson P E et al., 1981)*** *ou encore la pourriture des racines et du collet* ***(Jarvis W et al ., 1978).***

Les formes spéciales de F. oxysporum s'attaquent souvent à la plupart des plantes cultivées mono et dicotylédones ***(El Modafar C., 1994)****, certaines d'entre elles ne présentent plus de réel problème agronomique, c'est le cas de la forme spéciale F. oxysporum f.sp. lycopersici, pour laquelle la plupart des variétés de tomate cultivées sont résistantes. Par contre, F. oxysporum f.sp. radicis. lycopersici est à l'origine de conséquences dévastatrices sur la tomate dans de nombreux pays du bassin méditerranéen, elle est responsable de pourriture racinaire et du collet* ***(Can C., 2004; Utkhede R S., 2006).***

Partie Expérimentale

Objectifs escomptés

A la lumière des brefs rappels bibliographiques qui ont été présentés ci- dessus et conscients des dégâts qui peuvent être occasionnés par les espèces appartenant au genre Fusarium, nous nous sommes basés dans ce présent travail sur la lutte biologique contre ces champignons afin de réduire leur impact.

Suite aux innombrables travaux de recherche, les huiles essentielles, semblent présenter un potentiel thérapeutique important à l'égard des différentes pathologies touchant les plantes, l'homme ainsi que l'animal.

L'objectif de ce présent travail est donc :

• Etudier l'activité antifongique de l'huile essentielle du clou de girofle sur deux espèces de fusarium :

- *Fusarium oxysporum fsp lycopersici (souche de référence 4287)(FOL)*
- *Fusarium oxysporum fsp radicis lycopersici. (Isolat algèrien) (FORL)*

Au vue de cet objectif, nous avons établi notre travail expérimental comme décrit dans le chapitre ci-dessous

I. Matériels et Méthodes

1.1 Produits biologiques

Le clou de girofle (Syzygium aromaticum) : ces boutons proviennent d'Inde, nous nous les sommes procurés auprès d'un fournisseur dans la régiond'Akbou, dans la vallée de la Soumame à Bejaïa. Ce dernier importe sa matière première auprès d'un fournisseur en Inde.

1.2 Souches fongiques

Les deux souches fongiques choisies pour cette étude sont :

- *Fusarium oxysporum fsp lycopersici (souche de référence 4287)*
- *Fusarium oxysporum fsp radicis lycopersici. (Isolée en Algérie par DrDEBBI ALI Chercheur au Centre de recherche en biotechnologie (CRBt)*

Les deux souches ont été procurées au niveau du Centre de recherche en biotechnologie (CRBt) de Constantine.

1.3 Extraction de l'huile essentielle de Syzygium aromaticum

L'huile essentielle de Syzygium aromaticum est obtenue par la méthode d'hydro-distillation, dans un appareil de type Clevenger.

L'opération d'extraction de l'huile essentielle a duré 02 heures à partir du début d'ébullition, elle a été réalisée au niveau du laboratoire de la faculté de Bejaïa. 100g de matière végétale séchée ont été mis dans un ballon à fond rond, additionnée de 1 litre d'eau distillée, puis chauffée. Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical puis dans le serpentin de refroidissement où aura lieu la condensation.

Le liquide recueilli consiste en un distillat avec une couche d'huile essentielle au-dessous de l'eau.

L'huile du clou de girofle, ayant une densité légèrement plus élevée que celle de l'eau, se condense en dessous puis elle est récupérée et traitée par un déshydratant, le sulfate de sodium, pour éliminer le peu d'eau susceptible

d'avoir été retenue dans l'huile.

L'huile essentielle obtenue a été récupérée dans des flacons en verre brun fermé hermétiquement et à l'abri de la lumière pour éviter toute dégradation, puis gardée au réfrigérateur à +4°C.

L'opération d'extraction a duré 02 heures à partir du début d'ébullition.

1.3.1 Calcul du rendement d'extraction en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle (RHE) est le rapport entre la masse de l'huile extraite (MHE) et la masse de la matière végétale sèche dont cette huile a été extraite (Ms) ***(AFNOR., 2000)****. Le rendement est calculé commesuit :*

$$RHE(\%) = MHE/Ms \; X100$$

RHE *: Rendement en huile essentielle des clous de girofle exprimée en (%).* ***MHE***

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

Ms *: Masse de la matière végétale sèche utilisée pour l'extraction (g).*

1.4 Etude de l'activité antifongique de l'huile essentielle de clou de girofle

1.4.1 Culture des champignons

Les deux souches fongiques ont été cultivées sur le milieu pomme de terre dextrose (PDA) durant 07 jours à l'obscurité et à 25°C afin de favoriser la croissance mycélienne.

1.4.2 Evaluation de l'activité antifongique

L'activité antifongique de l'huile essentielle de clou de girofle a été évaluée, en utilisant la méthode de contact direct puis en calculant le taux d'inhibition de la croissance du mycélium.

Quatre concentrations d'huile essentielles ont été étudiées pour les deux

champignons à savoir : 10 µl/100ml, 15 µl/100ml, 20 µl/100ml et 25µl/100ml. Pour chaque concentration, nous avons utilisés trois boites de Pétri.

Un disque mycélien, prélevé à partir de la périphérie de la culture âgée de 7jours est placés au centre de la boite de Pétri contenant l'huile essentielle.

Un témoin négatif a été préparé pour les deux souches.

L'incubation se fait à l'obscurité pendant 07 jours à 25 °C, cette durée permetselon Gilbert et al en 2008 la colonisation de toute la gélose.

Après 7 jours d'incubation, nous avons procédé avec un pied à coulisse à la mesure des diamètres d'inhibition des 4 concentrations étudiées sur nos deuxchampignons.

Le taux d'inhibition a été calculé en suivant la formule suivante.

$$I'(\%) = 100 \times (dC - dE) / dC$$

I'(%) = *Taux d'inhibition exprimé en pourcentage.*

dC *= Diamètre des colonies dans les boites «Témoin négatifs »*

dE *= Diamètre des colonies dans les boites contenant l'huile essentielle du clou de girofle.*

II. Résultats et discussions

2.1 Extraction de l'huile essentielle du clou de girofle

Les différentes caractéristiques de l'huile essentielle du clou de girofleobtenue par hydro distillation sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Les différentes caractéristiques de l'HE de clou de girofle

Huile essentielle étudiée	***Aspect***	***Couleur***	***Odeur***
Clou de girofle	*Liquide*	*Jaune clair*	*Très forte (épicée)*

2.1.1 Rendement de l'extraction

Son rendement est exprimé en pourcentage dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Résultat du rendement d'HE de clou de girofle.

Plante	***Poids de la plante (g)***	***Plante de l'HE(g)***	***Durée d'extraction***	***Rendement (%)***
Boutons séchés	*100*	*9*	*2h*	***9%***

Il s'avère que le rendement en huile essentielle extraite par hydro-distillation àpartir des clous de girofle est de ***09%.***

Ce rendement est important comparé à celui rapporté par ***(Atmani ; Baira.,***

2015) *par contre, il est faible comparativement à celui obtenu par* ***(Haouari A., 2015)****, ainsi que celui obtenu par* ***(Haddouche ; Dernani., 2018).*** *Les rendements obtenus par ces derniers sont respectivement de :* ***3.50%, 10.60%*** *et* ***11.56%****.*

La différence dans le rendement de l'extraction des huiles essentielles peut être attribuée à plusieurs facteurs dont celui de la différence de provenance du matériel végétal et des différentes techniques d'extraction, et quand il s'agit de la même méthode d'extraction comme le cas de notre étude comparée aux autres travaux, l'écart peut s'expliquer par la différence dans letemps, la durée et la température de séchage ainsi que les parties végétales utilisées pour l'extraction et la période de récolte.

En outre, il est à noter que les facteurs climatiques (chaleur, froid), le génotype de la plante, son origine géographique et la nature du sol peuvent interférer dans le rendement d'huile essentielle.

2.2 Etude de l'activité antifongique de l'huile essentielle de clou de girofle

Tableau 7 : Taux d'inhibition de l'huile essentielle de clou de girofle vis à vis de FORL ; Fusarium oxysporum fsp radicis lycopersici (isolat algérien).

Les concentrations de l'HE de clou degirofle (µl/100ml)	***Le taux d'inhibition de l'HE (%)***
10	*53.9*
15	*76.31*
20	*78.94*
25	*86.84*

Tableau 8 : Taux d'inhibition de l'huile essentielle de clou de girofle vis-à-vis de FOL ; Fusarium

oxysporum fsp lycopersici (souche de référence).

Les concentrations de l'HE de clou degirofle (µl/100ml)	*Le taux d'inhibition de l'HE (%)*
10	*33.33*
15	*84*
20	*86.66*
25	*100*

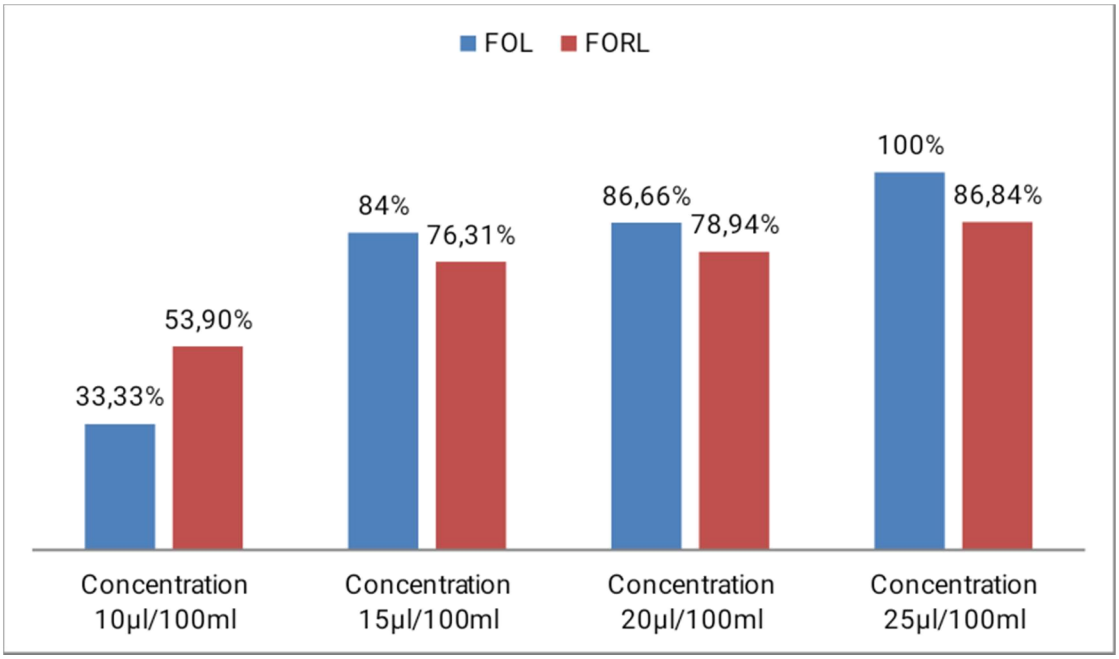

Figure 13 : Les taux d'inhibition de cl'HE du clou de girofle vis-à-vis de Fusarium oxysporum fsp lycopercisi (FOL) et Fusarium oxysporum fsp radicis lycopercisi (FORL).

L'activité antifongique de l'huile essentielle du clou de girofle a été évaluée in vitro vis-à-vis de FORL (isolat algérien) et FOL (souche de référence), elle est exprimée par le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne dont les résultats sont indiqués dans les tableaux 07 et 08.

Comme rapporté dans ***le tableau 07****, la souche de FORL (isolat algérien) a présenté une sensibilité vis-à-vis de l'huile essentielle du clou de girofle et ce pour les quatre concentrations étudiées, avec des taux d'inhibition de* ***53.9%*** *à*

10 µl/100ml *de l'huile essentielle, de* ***76.31%*** *à* ***15 µl/100ml****, de* ***78.94%*** *à* ***20 µl/100ml*** *et de* ***86.84%*** *à* ***25 µl/100ml.***

Ceci révèle que notre huile essentielle présente un potentiel antifongique important vis-à-vis de cette souche fongique et qui est proportionnel à la concentration, c'est-à-dire il augmente en augmentant la concentration de l'huile essentielle.

Les résultats obtenus par ***Boussaha A., Belhouan W en 2017*** *ont montré des résultats similaires c'est-à-dire une efficacité satisfaisante de l'huile essentielle du clou de girofle vis-à-vis du Fusarium oxysporum dont le taux d'inhibition est de 75.88% à une concentration de 25% de l'HE.*

Marina P et al., 2019 *ont également montré dans leurs travaux que l'HE du clou de girofle à une concentration de 15 µl/10ml dans le milieu PDA acomplètement inhibé la croissance mycélienne du Fusarium oxysporum. Les diamètres d'inhibition de 33 et 11 mm ont été enregistrés à des concentrations de 5 et 7 µl/10ml respectivement, ce qui permet de déduire que le taux d'inhibition est proportionnel à la concentration.*

Les travaux de ***Ram Charan R et al., 2011*** *ont également rapportés une activité antifongique du clou de girofle avec une concentration minimaleinhibitrice de 9 /12 µl/ml de Fusarium oxysporum.*

Les différences dans l'activité antifongique de l'huile essentielle du clou de girofle contre la souche fongique de Fusarium oxysporum fsp radicis lycopersici (isolat algérien) peuvent être dues aux conditions expérimentales liées à la souche fongique ou à l'huile étudiée.

Pour ce qui est de FOL (souche de référence) et comme décrit dans ***le tableau 08****, l'huile essentielle du clou de girofle à une concentration de* ***25 µl/100ml*** *inhibe complètement la croissance mycélienne de FOL. L'action des concentrations* ***20, 15 et 10 µl/100ml*** *de l'HE testées a permis d'avoir des taux d'inhibition allant respectivement de* ***86.66, 84*** *et* ***33.33%.***

Sumant B et al en 2019 *ont prouvé l'efficacité de l'HE sur la souche fongique de Fusarium oxysporum fsp lycopersici dont le taux d'inhibition est de 100% aux concentrations de 0.5, 01, 05 et 10% de l'HE. Par contre, le taux d'inhibition est faible (13%) à une concentration de 0.1% de l'HE.*

Laila M et al en 2020 *ont obtenu dans leurs travaux une activité antifongique intéressante de l'huile essentielle du clou de girofle (comparée aux autres huiles essentielles utilisées dans leurs études) vis-à-vis de Fusarium oxysporum avec un diamètre d'inhibition de 1.8cm à une concentration de 0.04% de l'HE. En outre, ils ont enregistré une inhibition totale de Fusarium oxysporum à une concentration de l'HE de 0.05%.*

Selon ***Marian T et al en 2018,*** *l'HE de clou de girofle possède une activité puissante vis-à-vis de fusarium oxysporum fsp lycopersici dont une inhibition complète à une concentration de 4% de l'HE. Les taux d'inhibition de 81.3% à 2% de l'HE et de 44.4% à 1% ont été enregistrés.*

Selon ***Dan wang et al en 2019****, l'huile essentielle du clou de girofle possède un pouvoir inhibiteur sur la croissance mycélienne en agissant sur la mitochondrie et la rendant déformée et désorganisée. Ils ont montrés que la paroi cellulaire d'un champignon traité par une huile essentielle, devient épaisse et rugueuse et se détache ' partiellement de la paroi cellulaire.*

Rhayour, en 2016 *ainsi que* ***Lopez-malo et al., en 2005****, ont démontré dans leurs travaux que l'eugénol est à l'origine de l'inhibition de la croissance des souches fongiques, agissant sur leur membranes et provoquant une altération de la perméabilité et la fuite des constituants intracellulaire.*

D'après les résultats obtenus, l'huile essentielle de clou de girofle présente une activité inhibitrice intéressante sur les souches étudiées en utilisant de faibles concentrations. Cependant. Elle s'est révélée plus active et puissante sur la souche de référence (FOL) avec des taux d'inhibitions supérieurs à ceuxobtenus par la souche (FORL). L'huile essentielle du clou de girofle est composée de plus de 80% d'un phénol aromatique (eugénol) qui possède un pouvoir inhibiteur sur la croissance mycélienne.

Conclusion et perspectives

Les champignons du genre Fusarium sont responsables de diverses pathologies végétales, animales et humaines, la plupart du temps ces maladies sont anodines. Cependant certaines de ces fusarioses peuvent se révéler dangereuses notamment dans un contexte d'immunodépression.

Les plantes médicinales semblent présenter un potentiel thérapeutique important à l'égard des différentes pathologies et pourraient ainsi réduire le recours aux produits chimiques tels que les pesticides.

Dans ce présent travail, nous nous sommes proposé d'étudier l'activité antifongique de l'huile essentielle du clou de girofle sur deux espèces de Fusarium à savoir ; Fusarium oxysporum fsp lycopersici (souche de référence 4287) (FOL) et Fusarium oxysporum fsp radicis lycopersici (isolat algérien) (FORL). Dans un premier temps, nous avons procédé à l'extraction de notre huile essentielle du clou de girofle par la méthode d'hydrodistillation en utilisant les boutons du clou de girofle, le rendement était de 9%.

Dans un second temps, nous avons utilisé différentes concentrations de l'huile essentielle sur les deux souches fongiques afin d'en apprécier l'efficacité de cette dernière.

Nos résultats ont révélé un pouvoir inhibiteur important de l'huile essentielle de clou de girofle et ce avec les différentes concentrations étudiées sur les deux souches fongiques. L'huile essentielle de clou de girofle a présenté une activité antifongique satisfaisante avec un taux d'inhibition de 86.84% à une concentration de 25 µl/ml sur l'isolat algérien, cependant cette concentration inhibe complètement la souche fongique de référence FOL.

D'après nos résultats obtenus, l'huile essentielle du clou de girofle possède unpouvoir antifongique important, cependant ce pouvoir d'inhibition de la croissance mycélienne varie en fonction de l'espèce fongique et des concentrations utilisées.

A la lumière des résultats obtenus, le travail ouvre la voie à d'autres perspectives.

Dans le but de proposer une formulation biofongicide et afin d'obtenir des résultats plus significatifs et extrapolables à large échelle, il serait intéressantde compléter le travail en proposant ce qui suit :

- *Prendre en considération les paramètres affectant le cycle de vie du champignon (température, pH et milieu de culture).*
- *Etudier le pouvoir antifongique d'autres huiles essentielles extraites à partir d'autres plantes.*
- *Rechercher une éventuelle synergie de l'huile essentielle du clou de girofle avec une autre huile essentielle.*
- *Procéder à une chromatographie gazeuse couplée à une spectrométrie de masse afin d'identifier et de quantifier avec précision la composition de notre huile essentielle.*

A

AFNOR., 2000 *: Recueil de normes : les huiles essentielles. Monographies relatives auxhuiles essentielles. AFNOR 2: 661-663.*

Agrios G.N., 2005 *: Plant Pathology 5. Edition Elsevier Academic Press, California. 922 p.*

Aoki T., O'Donnell K., Geiser D M., 2014 *: Systematics of keyphytopathogenic Fusarium species: current status and future challenges.J Gen PlantPathol 80:189–201.*

Askun T., 2018 *: Introductory Chapter: Fusarium - Pathogenicity, Infections,Diseases, Mycotoxins and Management. P 01-06.*

Atsusane T., 1991 : *Clove oil or dehydroeugenol for controlling oxygen in the human body.Japan Kokai Tokkyo Koho ;227,6.*

B

Beckman C.H., 1987 *: The nature of wilt disease. Plants APS Press, The americanphytopathological Society, St Paul, Minnesota. 175 p*

Belabid L., Baum M., Fortas Z., Bouznad Z., Imad-Eujayl I., 2004 *: Pathogenic and genetic characterization of Algerian isolate of Fusarium oxysporum f. sp. Lentis by RAPD and AFLP analysis. Afr. J Biotechnol.3(1), 25-31.*

Benkeblia N., 2004 *: Antimicrobial activity of essentiel oil extracts of various onions(Allium cepa) and garlic (Allium sativum), Lebensm.-Wiss.U-Technol., p: 263-268.jeu 23:11*

Blancard D., 2009 *: Les maladies de la tomate, identifier, connaître, maîtriser. Edition Quae, Paris. 679 p* ***Booth***

C., 1971 *: The genus Fusarium. Kew, UK: Commonwealth Mycological Institute.237 p.*

Brenes A., Roura E., 2010 *: Essential oils in poultry nutrition ; main effects and modes of action. Anim. Feed Sci. Technol., 158, 1-14.*

Brown D.W., Proctor R.H., 2013 *: Fusarium: genomics, molecular and cellular biology (Norfolk: Caister Acad. Press).*

Bruneton J., 1999 *: Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales , 3ème édition, Ed TEC et DOC,paris.*

Buchanan BB., Gruissem W., Jones RL., 2000 : *Biochemistry & Molecular Biology of Plants. AmericanSociety of Plant Physiologists: Rockville, MA, p 1367.*

Bullock J.D., Khamis H.J., 2010 *: A retrospective statistical analysis of the Fusarium keratitis epidemicof 2004-2006. Ophthalmic Epidemiol 17, 179–184.*

Burgess L. W., Summerell B. A., Bullock S., Gott K. P., Backhouse D., 1994 *: Laboratory manual for Fusarium research, 3nd ed. University of Sydney, Sydney,Australia, 133.*

Burt S.A., 2004 : *Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. Int. J. Food Microbiol. 94: 223-253.*

C

Can C., Yucel S N., Korolev., Katan T., 2004 *: First report of crown and root rot oftomato caused by Fusarium oxysporum f.sp.radicis-lycopersici in Turkey. Plant Pathology 53:814-814*

Carlile M. J., Watkinson S. C., 1994 *: The Fungi. Eds., Academic Press, London, 482.*

Chabasse D., Bouchara JP ., De Gentile L., Brun S ., Cimon B., Penn P., 2002 : .*Les moisissures d'intérêt médical , cahier de formation en biologie médicale n°25. P29 , 78-84.*

Correll J.C., Puhalla, J.E., Schneider, R.W., 1986 *: Identification of Fusarium oxysporumf.sp. apii on the basis of colony size, virulence and vegetative compatibility.Phytopathology 76: 396-400.*

Couderc V L., 2001 *: Véronique. Toxicité des huiles essentielles. Thèse d'exercice, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2001, 65 p.*

Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bellh C., Gustafson J.E., Warmington J. R Wyllie S.G., 2000 :*The mode of antimicrobial action of the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil). Journal of Applied Microbiology 88: 170-175.*

E

El Mahjoub M., Bouzaidi A., Jouhri A., Hamrouni A., El Beji., 1979 *: Influence de la salinité des eaux d'irrigation sur la sensibilité du tournesol au Macrophomina phaseoli (Maubl.) Ashby. Ann. Phytopathol. 11 : 61-67.*

El Modafar C., 1994 *: Aspects histologiques et biochimiques des interactions hôte parasites (Platanus spp. – Ceratocystis fimbriata f.sp. plata ni). Réactions associées à la défense de l'hôte. Thèse de Doctorat d'Etat. Université de Montpellier II. Faculté des Sciences et Techniques. Languedoc. 258.*

F

Franchomme P., Penoel D., 2001 :*l'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jollois. 445p.*

G

Gangneux J.-P., Drogoul A S., 2008 *: Infections fongiques invasives : nouvelles données épidémiologiques et écologiques. Hématologie 14, 5–11.*

Gargouri S., 2003 *: Evaluation de l'incidence de la pourriture du pied du blé et de la structure des populations des espèces de Fusarium associées à la maladie. Thèse en Biologie végétale, Faculté des sciences de Tunis, Tunis, Tunisie, 94 p.*

Gautam P., 2011 *: Type I host resistance and Trichothecene Accumulation in Fusarium-infected Wheat Heads. American Journal of Agricultural and Biological Sciences 6, 231–241.*

Georgetti S.R., Casagrande R., Di Mambro V.M., Azzolini Ana E.C.S., Fonseca Maria J.V., 2003 : *Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the Chemiluminescence Methode. AAPSPharm Sci, 5 (2) : P1-5.*

Géraldine C., 2013 *: Myrtacées et aromathérapie. Sciences pharmaceutiques.*

Gilbert C A., Zhang N., Hutmacheer R B., Davis R M., Smart C D., 2008 *: Development of a DNA-based Macroarray for the detection and identification of Fusarium Oxysporum F sp vasinfectum in cotton Tissue. The journal of Cotton Science 12 :165-170.*

Gillespie D. R., J. G Menzies., 1993 *: Fungus gnats vector Fusarium oxysporum f. sp.radicis-lycopersici. Ann. Appl. Bio. 123: 539-544.*

Goetz P., Jeune R., 2012 : *Syzygium Aromaticum L, Merr and Perry (Myrtaceae) giroflier, phytothérapie,p 37-43.*

Granchinho S. C. R., Franz C. M., Polishchuk E., Cullen W. R., Reimer K. J., 2002 *: Transformation of arsenic (V) by the fungus Fusarium oxysporum f.sp. melonis isolated from the alga Fucus gardneri. Appl. Organomet. Chem. 16: 721-726.*

H

Hajlaoui M. R., Hamza N., Gargouri, S., Guermech, A., 2012 *: Apparition en Tunisie de Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici, agent de la pourriture des racines et du collet de la tomate. EPPO Bulletin, 31: 505–507. doi: 10.1111/j.1365-2338.2001.tb01034.*

J

Jadhav B.K., Khandelwal K.R., Ketkar A.R., Pisal S.S., 2004 :*Formulation and Evaluation ofMucoadhesive Tablets Containing Eugenol for the Treatment of Periodontal Disease. Drug. Dev. Ind. Pharm.; 30: 195- 203.*

Jarvis W.,Shoemaker, R., 1978 *: Taxonomic status of Fusarium oxysporum causing foot and root rot oftomato. Phytopathology 68: 1679–1680.*

Jeunot B., 2005 *: Les fusariotoxines sur céréales: détection, risque et nouvelle réglementation. Thèse d'exercice. Université de Nancy I. UFR Sciences pharmaceutiques et biologiques.*

Jones J.P., Stall R.E., Zitter T.A., 1991 *: Compendium of Tomato Diseases. APS, St. Paul, MN, USA, 100 p.*

K

Kalemba D., Kunick A., 2003 : *Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Curr. Med. Chem. 10: 813-829.*

Kaloustian J., Hahdji-Minaglou F., 2012 : *La connaissance des huiles essentielles. Qualitologie et aromathérapie. Springer . 210p.*

Kamilova F., Kravchenko L.V., Shaposhinkova A.I., Makarova N., Lugtenberg B., 2006 *: Effect of tomato pathogen Fusarium oxysporum f.sp. radicis-lycopersici and of the biocontrol bacterium Pseudomonas fluorescens WCS365 on the composition of organicacids and sugars in tomato root exudates. Mol. Plant Microbe Interact. 19 (10): 1121-1126.*

Kim J.T., Park I.H., Hahm Y.L., Yu S.H., 2001 *: Crown and root rot of green house tomato caused by Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici in Korea. Plant Pathol. J.17: 290-294*

Knobloch K., Pauli A., Iberl B., Weigand H., Weis N., 1989 : *Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. Journal of Essential Oil Research. 1(3): p. 119-128.*

Kommedahl T., Abbas H.K., Burnes P.M., Mirocha C.J., 1988 *:Prevalence and toxigenicity of Fusarium spp. from soils of Norway near the Arctic Circle. Mycologia80(6) : 790-794.*

L

Laekeman S.M., Hoof V.L., Haemers A., Berghe V.A.D., Herman A.G., Vlietink A.K., 1990 : *Eugenol, a valuable compound for in-vitro experimental research and Worth while for further in vivo investigation. Phytother. Res.; 4: 90-96.*

Leary J. V., Endo R.M., 1971 *: A Fusarium induced root rot of staked tomatoes. Phytopathology 61: 900.* ***Leslie***

J.F., Summerell B.A., 2006 : *The Fusarium Laboratory Manual (Ames, Iowa: Wiley-Blackwell).*

M

Madelin T.M., 1994 *: Fungal aerosols: a review. Journal of aerosol science. 25: 1405-1412.*

Malecky M., 2007 : *Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. Thèse de doctorat .INRA,UMR 791 physiologie de la nutrition et alimentation, F-75231 Paris, page 30-35.*

Mandeel Q.A., Abbas J.A., Saeed A.M., 1995 *: Survey of Fusarium species in an arid environment of Bahrain: II. Spectrum of species on five isolation media. Sydowia 47 :223-239.*

Marie-Alix d'Halewyn, Pierre Chevalier., 2022 : *M. Sc. microbiologie-immunologie et, Ph. D. microbiologie.*

Mayayo E., Pujol I., Guarro J., 1999 : *Experimental pathogenicity of four opportunist Fusarium species in a murine model. Journal of Medical Microbiology 48, 363–366.*

McMullen M. P., R. W Stack., 1984 *: The effects of surface mining and reclamation on Fusarium populations of grassland soils. Reclamation and Revegetation Research 2: 253-266.*

McMullen M.P., Stack R.W., 2011 : *Fusarium head blight (scab) of small grains.*

Moretti, A., Belisario A., Tafuri, A., Ritieni A., Corazz L., Logrieco A., 2002 : *Production of beauvericin by*

different races of Fusarium oxysporum f. sp.melonis, the Fusarium wilt agent of muskmelon. Eur. J. Plant Pathol. 108: 661–666

Morin J., Malhuret R., Basted P., 1983 : *Aromathérapie, Exemple de la réalisation pratique de l'utilisation des huiles essentielles en thérapeutique, ISSN 0992-9406.*

N

Nasraoui B., 2008 : *Principales maladies fongiques des Céréales et deslégumineuses en Tunisie. Collection M/Science de l'ingénieur. Centre de publicationuniversitaire Tunisie, p 121.*

Nedjai I., Nedjai, S., 2017 :*Activité antimicrobienne des huiles essentielles. Mémoire:écologie microbienne. Bejaia: Univérsité A. Mira. 64p*

Nelson P. E., Toussoun T. A., Cook R. J., 1981 : *Fusarium Diseases Biology and Taxonomy. Pennsylvania State University Press, University Park, Pennsylvania.*

Nelson P. E., Toussoun T. A., Marasa W. F. O. 1983 *: Fusarium Species: AnIllustrated Manual for Identification. Pennsylvania State University Press, University Park, Pennsylvania..*

Nelson P.E., Dignani M.C., Anaissie E.J., 1994 : *Taxonomy, biology, and clinical aspects of Fusarium species. Clin Microbiol Rev 7, 479–504.*

Nishijima H., Uchida R., Kawakami N., Shimamura K. and Kitamura K., 1998 : *Role of endothelium and adventitia on eugenol induced relaxation of rabbit ear artery precontracted by histamine. J. Smooth. Muscle. Res.; 34: 123-137.*

O

O'Donnell., Todd J. Wa r d., Vincent A. R. G. Robert., Pedro W. Crous., David M. Geiser., Seogchan Kang., 2015 *: INVITED GUEST EDITORIALDNA sequence-based identification of Fusarium: Current status and future directions Kerry.*

Ohara T., Inoue I., Namiki F., Kunoh H., Tsuge T., 2004 *: REN1 is required for development of microconidia and macroconidia, but not of chlamydospores, in the plant pathogenic fungus Fusarium oxysporum. Genetics 166: 113-124.*

Ohara T., Tsuge T., 2004 *: FoSTUA, encoding a basic helix-loop-helix protein, differentially regulates development of three kinds of asexual spores, macroconidia, microconidia, and chlamydospores, in thefungal plant pathogen Fusarium oxysporum. Eukaryotic Cell 3: 1412-1422.*

P

Pierron C., 2014 *: Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France : exemples d'applications en gériatrie-gérontologie et soins palliatifs, Thèse.*

Pinel C., Parat S., Grillot R., Perdrix A., 1998 : *Mycotoxines. Pathologie professionnelle et de l'environnement 8, 1–5.*

Pitt JI ., Hocking AD., 2009 : *Fungi and food spoilage. Springer Dordrecht Heidelberg London New York. Third edition. P 89-122.*

Pitt, J.I., Hocking, A.D., Miscamble, B.F., Dharmaputra, O. S., Kuswanto, K.R.,Rahayu, E.S., Sardjono., 1997 : *The mycoflora of food commodities from Indonesia. J. Food Mycol. 1: 41–60.*

Placinta C.M., D'mello J.P.F., Macdonald A.M.C., 1999 : *A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with Fusarium mycotoxins. Animal Feed Science and Technology 78, 21–37.*

Proctor R.H., Plattner R.D., Brown D.W., Seo J.A., Lee, Y.W., 2004 :.*Discontinuous distribution of fumonisin biosynthetic genes in the Gibberella fujikuroispecies complex. Mycol. Res. 108: 815–822.*

R

***Redecker D., 2002** : New views on fungal evolution based on DNA markers and the fossil. Research inMicrobiology, 153: 125-130.*

***Ripert C., 2013 :** Mycologie médicale (Lavoisier).*

S

***Salze UJ., 1977 :** The analysis of essential oils and extracts (oleoresins) from seasonings a critical review. C.R.C Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 9: 345-373.*

***Sato R., Araki T.,1974** : On the tomato root-rot disease occuring under vinyl-house conditions in southern Hokkaido. Annual Report of the society of plant Protection of North Japan 25,5-13.*

***Sautour M., Edel-Hermann V., Steinberg C., Sixt N., Laurent J., Dalle F., 2012 :** Fusarium species recovered from the water distribution system of a French university hospital. Int. J. Hyg. Environ. Health215: 286–292.jeu 23:38*

***Sciortino C V., 2017 :** Atlas of Clinically Important Fungi. Wiley & Sons, Inc. P195-216.*

***Sebai M., Boudali M., 2012 :** Phytothérapie entre la confiance et méfiance. Mémoire professionnel infirmier de la sante publique. Institut de formation paramédical CHETTIA(Algérie).*

***Sikkema J., de Bont Jam., Pollman B., 1994 :**Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. J. Biol. Chem. 269: 8022-8028.*

***Singh A.K., Dhamanigi S.S., Asad M., 2009 :** Anti-stress activity of hydro-alcoholicextract of Eugenia caryophyllus buds (clove). Indian. J. Pharmacol.; 41(1): 28-31.*

***Ślusarski, C. 2000 :.** Choroby odglebowe pomidorów (cz. II). W bezglebowej uprawiepod oslonami. Haslo Ogrodnicze 2: 46-49.*

***Smith JE., Moss MO., 1985** : Mycotoxins: Formation, Analysis and Significance. John Wiley&Sons, Great Britain. 1985; pp 73–82*

***Sonada R.M., 1976** : The occurrence of Fusarium root rot of tomatoes in south Florida. Plant. Dis. Rept. 60 : 271-274*

***Sophie Barbelet., 2015 :** le giroflier : historique, description et utilisation de la plante et de ses huiles essentielles. Vol5. P 22-26.*

***Souza E.L., Stamford T.L., Lima E.O., 2006** : alternative sources of study od citrus essential oils. Flavour and Frangrance Journal. Vol. 20. Page 249-264.*

***Steinkellner S., Mammerler R., Vierheilig H., 2005** : Microconidia germination of thetomato pathogen Fusarium oxysporum in the presence of root exudates. J. Plant. Inter.1:23-30*

***Stępień L., Lalak-Kańczugowska J., Witaszak N., Urbaniak M. , 2019 :** Fusariumsecondary metabolism biosynthetic Pathways: so close but So Far Away. J.-M.Mérillon, K. G. Ramawat (eds.), Co-Evolution of Secondary Metabolites.01-04.*

T

***Tamietti G., Lento G. 1989 :** The crown root rot of tomato caused by Fusariumoxysporum f.sp. radicis lycopersici in Italy. Inf. Fitopatol. Dif. Piante 36(11):59-61.*

***Toumi- Benali F., 2009 :** Valorisation de Tetraclinis articulata dans la mise en valeurdes espèces dégradés dans l'Ouest Algérien, possibilité de culture, régénération etpotentienlité phyto-bioclimatique de l'espèce. Thèse de doctorat. Université Sidi Bel Abbes.*

U

Utkhede R.S., 2006 *: Soil sickness, replant problem or replant disease and its integrated control. Allelopathy Journal 18(1): 328-335.*

W

Walker S. L., Leath S., Hagler W.M, Jr., Murphy J. P., 2001 *: Variation among isolates of Fusarium graminearum associated with fusarium head blight in North Carolina. Plant Disease, 85(4), 404-410.*

Wie M.B., Won M.H., Lee K.H., Shin J.H., Lee J.C., Suh H.W., Song D.K., Kim Y.H., 1997 :*Eugenol protects neuronal cells from excitotoxic and oxidative injury in primary cortical cultures.Neurosci. Lett.; 225: 93-96.*

Y

Yamamoto W., Omatsu T., Takami K., 1954 : *Studies on the corm rots of Crocus sativus L. I. on saprophytic propagation of Sclerotinia gladioli and Fusarium oxysporum f. gladioli on various plants andsoils. Sci.Rep. Hyogo Univ. Agric 1: 64–70.*

Résumé

Notre travail porte sur l'étude et la mise en évidence de l'activité antifongique de l'huile essentielle du clou de girofle extraite par hydro distillation à partir des boutons séchés et dont le rendement obtenu était de ***9%****. L'activité antifongique a été mise en évidence par la méthode de contact direct vis-à-vis de deux espèces de Fusarium : Fusarium oxysporum fsp lycopersici (souche de référence 4287) (FOL) et Fusarium oxysporum fsp radicis lycopersici (isolat algérien) (FORL). Nous avons préparé quatre concentrations de l'huile essentielle à savoir* ***: 10, 15, 20 et 25 µl/100ml.****Les résultats de nos travaux sont comme suit : l'huile essentielle de clou de girofle possède une activité inhibitrice sur le Fusarium oxysporum fsp radicis lycopersici dont les taux d'inhibition sont de:* ***53.9%*** *à* ***10 µl/100ml****,****76.31%*** *à* ***15µl/100ml****,****78.94%*** *à* ***20µl/100ml*** *et* ***86.84%*** *à* ***25µl/100ml****. La croissance mycélienne de Fusarium oxysporum fsp lycopersici est totalement inhibée par le clou de girofle à une concentration de* ***25µl/100ml****, l'action des concentrations* ***20,15*** *et* ***10 µl/100ml*** *de l'huile essentielle testées a permis d'avoir des taux d'inhibition allant respectivement de* ***86.66, 84*** *et* ***33.33%.****Les résultats obtenus dans ce présent travail démontre que l'huile essentielle du clou de girofle possède un pourvoir antifongique important vis-à-vis des souches étudiées, rendant ainsi l'utilisation des huiles essentielles, une piste intéressante dans la lutte biologique contre les champignons afin de réduire leur impact.*

Mots clés *: Huile essentielle du clou de girofle ; Activité antifongique ; Fusarium oxysporum fsp lycopersici ; Fusarium oxysporum fsp radicis lycopersici.*

Abstract

Our work focuses on to study and the demonstrate of the antifungal activity of clove essential oil extracted by hydro distillation from dried buds and whose yield was 9%. The antifungal activity was demonstrated by « the direct contact method » against two strains of Fusarium: Fusarium oxysporum fsp lycopersici (reference strain 4287) (FOL) and Fusarium oxysporum fsp radicis lycopersici (Algerian isolate) (FORL). We have prepared four concentrations of the essential oil: ***10, 15,20*** *and* ***25 µl/100ml****.*

The results of our work are as follows: clove essential oil has an inhibitory activity on Fusarium oxysporum fsp radicis lycopersici whose inhibition rates are: ***53.9%*** *at* ***10 µl/100ml****,* ***76.31%*** *at* ***15µl/100ml****,* ***78.94%****at* ***20µl/100ml*** *and* ***86.84%****at* ***25µl/100ml****. The mycelial growth of Fusarium oxysporum fsp lycopersici is completely inhibited by cloves at a concentration of* ***25 µl/100ml****,the action of the concentrations* ***20.15*** *and* ***10 µl/100ml*** *of the essential oil tested made it possible to have rates of inhibition ranging respectively from* ***86.66, 84*** *and* ***33.33%.***

The results obtained in this present work demonstrate that the essential oil of clove has a significant antifungal power vis-à-vis the strains studied, thus making the use of essential oils an interesting avenue in the biological fight against fungi to reduce their impact.

Key words*:Clove oil; Antifungal activity; Fusarium oxysporum fsp lycopersici; Fusarium oxysporum fsp radicis lycopersici.*

ملخص

يهدف عملنا إلى دراسة وإثبات النشاط المضاد للفطريات للزيت العطري للقرنفل المستخرج بالتقطير المائي من البراعم المجففة بمردود *9٪.*

تم توضيح الفعالية المضادة للفطريات من خلال طريقة الاتصال المباشر ضد *Fusarium: Fusarium oxysporum fsp.lycopersi*سلالة مرجعية *4287 (FOL)* و*Fusarium oxysporum fsp radicis lycopersici* عزلة جزائرية *.(FORL)* قمنا بإعداد أربع تراكيز من الزيت العطري وهي: *10* ، *15* ، *20* و *25* ميكرولتر/ *100* مل. نتائج عملنا هي كما يلي: زيت القرنفل الأساسي له نشاط مثبط على*Fusarium oxysporum fsp radicis lycopersici* الذي تبلغ معدلات تثبيطه: *53.9٪* عند *10* ميكرولتر/ *100* مل ، *76.31%*عند *15* ميكرولتر/ *100* مل ،*78.94%* عند *20* ميكرولتر/ *100* مل و*86.84%* عند *25* ميكرولتر/ *100* مل. تم تثبيط النمو الفطري لـ *Fusarium oxysporum fsp lycopersici*تما م ا بواسطة القرنفل بتركيز *25* ميكرولتر / *100* مل ، وعمل التراكيز *20.15* و *10* ميكرولتر / *100* مل من الزيت العطري الذي تم اختباره جعل من الممكن الحصول على معدلات تثبيط نتراوح على التوالي من *86.66* ،*84* و*33.33٪*.تظهر النتائج التي تم الحصول عليها في هذا العمل الحالي أن الزيت العطري للقرنفل له قوة كبيرة مضادة للفطريات مقابل السلالات المدروسة ، مما يجعل استخدام الزيوت الأساسية وسيلة مثيرة للاهتمام في المعركة البيولوجية ضد الفطريات.للتقليل من تأثيرها.

الكلمات الرئيسية: زيت عطري ؛ نشاط مضاد القرنفل ؛ *oxysporum fsp lycopersici* ؛ *fusarium oxysporum fsp radicis lycopersic*