

Research Article

EVALUATION IN VITRO DE L'ACTIVITÉ ANTIFONGIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE DE SYZYGIUM AROMATICUM PAR MICROATMOSPHÈRE CONTRE TROIS CHAMPIGNONS PHYTOPATHOGÈNES DES DENRÉES STOCKÉES (ASPERGILLUS SP, MUCOR SP ET BOTRYODIPLODIA SP)

^{1,*} AMBE Alain Serge Augustin, ¹NEA Fatimata, ²KANGA Yao, ³ZIRIHI Guédé, ¹KOUASSI Roland Hervé

¹Ecole Normale Supérieure, Abidjan, Côte d'Ivoire.

²Université Péléforo Gbon Coulibaly, Korhogo, Côte d'Ivoire.

³Université Félix HOUPOUËT-BOIGNY, Abidjan, Côte d'Ivoire.

Received 19th May 2025; Accepted 20th June 2025; Published online 30th August 2025

RÉSUMÉ

Le clou de girofle est une épice utilisée depuis longtemps par les guérisseurs traditionnels comme une source riche en composés antimicrobiens bioactifs. L'objectif de cette étude est d'évaluer le pouvoir antifongique par micro-atmosphère de l'huile essentielle du clou de girofle contre trois champignons des denrées stockées. L'activité antifongique de l'huile essentielle a été testée sur trois (3) champignons phytopathogènes (*Aspergillus* sp. *Mucor* sp. et *Botryodiplodia* sp.) de denrées stockées par la méthode de micro atmosphère. Le screening phytochimique de l'huile essentielle a été réalisé à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse afin de déterminer les grands groupes de molécules du clou de girofle. Les résultats de l'activité antifongique ont montré une inhibition totale (100%) de la croissance mycélienne des trois (3) champignons phytopathogènes après 10 jours dès la première concentration (25µl). Après 10 jours en culture, aucune croissance mycélienne n'a été observée sur les différents milieux. L'analyse chimique de l'huile essentielle du clou de girofle a montré que l'huile essentielle du clou de girofle est majoritairement constituée du composé eugénol avec un taux de 58,06%. L'huile essentielle du clou de girofle pourrait donc être une alternative dans la lutte contre les champignons phytopathogènes.

Mots-clés: Clou de girofle; Huile essentielle; Micro-atmosphère; Champignons phytopathogènes.

INTRODUCTION

Les céréales constituent la première ressource en alimentation humaine. Elles fournissent également une ressource privilégiée pour l'alimentation animal et multiple applications industrielles (Djermoum, 2009). A elles seules, les céréales représentent près de 50% du régime alimentaire mondial rendant la sécurité alimentaire fortement dépendante de la production céréalière, du marché mondial et des stocks (Razika, 2020). L'importance de ces céréales dans le régime alimentaire mondial met en lumière la nécessité de garantir une production agricole stable et suffisante pour répondre aux besoins alimentaires mondiaux. Dans cette optique, les pesticides jouent un rôle très important dans la gestion des ravageurs et des pathologies des cultures. Ils contribuent ainsi, à l'amélioration de la production agricole. (Razika, 2022). Les infections fongiques représentent aujourd'hui un défi croissant pour le monde scientifique végétal. En effet les champignons développent de plus en plus de résistance aux fongicides synthétiques, qui autre fois, étaient des solutions parfaites dans la lutte contre ces agents pathogènes. Cependant, l'utilisation intensive des pesticides de synthèse ces 50 dernières années a engendré un certain nombre d'impacts négatifs sur l'utilisateur, le consommateur, l'environnement terrestre et aquatique (Chaïb et al., 2021). Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), plus de 1000 pesticides sont utilisés à travers le monde pour empêcher que nos aliments ne soient endommagés ou détruit par des nuisibles. Malheureusement, chacun d'eux possède des propriétés et des effets nocifs. L'inquiétude quant à l'utilisation de ces pesticides se base notamment sur les effets toxiques avérés sur la santé humaine, animale et les écosystèmes, ainsi que sur le phénomène de bioaccumulation associé (Annett et al., 2014). Face à cette menace,

la recherche de nouveaux agents antifongiques devient cruciale et impérieuse. C'est dans ce contexte qu'a suscité l'intérêt de s'incliner vers les plantes aromatiques médicinales (PAM) en raison de leur richesse en composés bioactifs offrant une perspective prometteuse dans la lutte contre les infections fongiques et aussi bactériennes. Il existe une multitude des plantes aromatiques médicinales qui possède des propriétés bioactives. Parmi celles-ci, figure *Syzygium aromaticum* (Myrtaceae) réputée pour ses propriétés antifongiques et antibactériennes (Amina et al., 2019). Cette étude vise à contribuer à la valorisation des plantes médicinales et aromatiques notamment, le clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) dans la lutte contre les champignons phytopathogènes en Côte d'Ivoire.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel

Matériel végétal

Il était constitué de l'huile essentielle obtenue des boutons floraux de *Syzygium aromaticum*.

Matériel fongique

Trois souches fongiques ont été isolées de l'arachide, du maïs et du haricot (*Aspergillus* sp, *Mucor* sp et *Botryodiplodia* sp)

Méthodes

Extraction d'huile essentielle de clou de girofle par hydrodistillation

*Corresponding Author: AMBE Alain Serge Augustin,

¹ Ecole Normale Supérieure, Abidjan, Côte d'Ivoire.

Cette extraction a été faite selon la méthode décrite par **Besombes (2008)**. Dans un premier temps, l'extraction des huiles essentielles se fait en plongeant la matière première dans l'eau puis porter à ébullition, c'est l'hydrodistillation. Par la suite, la matière première et l'eau sont séparées : c'est la vapo-hydrodistillation; ensuite la vapeur d'eau est générée dans une chaudière à l'extérieur de l'alambic, technique dite vapo-distillation. Dans ces divers cas, la vapeur d'eau chargée d'huile essentielle est dirigée vers un condenseur formé généralement d'un serpent, à tubes parallèles, dans lequel circule de l'eau froide. Une fois condensées, eau et huile essentielle sont acheminées vers un essencier ou vase florentin. Dans ce dernier, les deux liquides sont non miscibles : l'eau aromatisée et l'huile essentielle. La séparation se fait ensuite par une simple décantation.

Identification des composés chimiques présents dans l'huile essentielle

Un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse a permis de déterminer les grands groupes de molécules du clou de girofle.

Evaluer de l'activité antifongique des huiles essentielles par micro-atmosphère.

La méthode micro-atmosphère de **Zaika (1988)** a été celle utilisée au cours de cette expérience. Des boîtes de Pétri contenant 20ml de milieu PDA ont été préparées. Une inoculation a été réalisée par dépôt au centre de chaque boîte de Pétri d'un disque de mycélium d'environ 6 mm de diamètre, prélevé des boîtes d'un pré culture de 7 jours.

Un disque stérile de papier filtre (FIORONI S.A. Italie) ($\varnothing = 6$ mm) a été placé au centre du couvercle de chaque boîte de Pétri. Puis, à l'aide d'une micropipette un volume de 25 μ l ou 50 μ l ou 100 μ l d'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* a été déposé sur le papier filtre. Chaque dose a été répété trois (3) fois, soit neuf (9) boîtes de Pétri par type de microorganisme. Pour le témoin trois boîtes ont été également utilisées. Les boîtes ont ensuite été scellées à l'aide d'un film étirable (dépôt en position inversée, sur le couvercle de la boîte). Ces boîtes de Pétri ont été incubées à 25°C durant 10 jours et la croissance radiale a été évaluée chaque soir durant ces 10 jours à l'aide d'une règle graduée suivant deux axes matérialisés sur la boîte de Pétri.

Détermination des paramètres antifongiques

L'effet fongicide de cette huile a été déterminé en repiquant sur un nouveau milieu solide l'inoculum prélevé de la zone d'inhibition de toutes les boîtes de *Aspergillus* sp, de *Mucor* sp et de *Botryodiplodia* sp. Les boîtes ensemencées ont été mis en observation comme précédemment. Lorsqu'il y a une reprise de croissance ou non, la dose testée est qualifiée de fongistatique ou fongicide. La Concentration minimale inhibitrice (CMI) a été définie comme la plus petite quantité (en μ l) d'huile essentielle pour laquelle aucune croissance n'est visible comparativement au témoin (disque vierge imbibé de DMSO).

Traitement de données

Les données recueillies ont été soumises à une analyse de variance à l'aide du logiciel Statistica version 7.1. Ce qui nous a permis de cribler l'effet de notre huile essentielle en fonction des différentes concentrations auxquelles ceux-ci réduisent considérablement ou inhibe totalement la croissance mycélienne *in vitro* des pathogènes ;

en cas de différence significative, les moyennes ont été séparées par le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

RÉSULTATS

Extraction d'huile essentielle du clou de girofle

L'extraction de l'huile essentielle s'est faite par hydro distillation à l'aide d'un distillateur, en utilisant une masse de 3 kilogrammes de clous de girofle. Le rendement de la distillation obtenu était de 0,044% et la quantité d'huile essentielle de 2 ml.

Composition chimique de l'huile essentielle du clou de girofle (*Syzygium aromaticum*)

L'analyse par CG-SM a permis d'identifier les composés répertoriés dans le tableau ci-dessous en utilisant la banque de données spectrales NIST98L (**Tableau I**). L'analyse du tableau a révélé que la composition chimique de l'huile est principalement dominée par l'eugénol (58,06%). On note également la présence de nonadécane (13,49%), ainsi que des sesquiterpènes tels que le β -caryophyllène (8,24%) et son isomère 1, α -caryophyllène (0,94%), et son dérivé l'oxyde de caryophyllène (0,71%). D'autres composés identifiés incluent l'acétyleugénol (6,07%), l'acide gras 9-octadécénoïque (5,03%) et des traces de bis (2-éthylhexyl) phtalate (0,81%). La vitamine E est également présente dans l'huile avec un pourcentage supérieur à 6% (figure 1).

Tableau I: Composition chimique de l'huile essentielle du clou de girofle

Ordre d'élution	TR (min)	Nom du composé	Formule moléculaire	air (%)
1	19.70	Eugénol	C10H12O2	58.06
2	20.72	β - caryophyllène	C15H24	8.24
3	21.47	α - caryophyllène	C15H24	0.94
4	23.01	Acétyleugénol	C11H14O3	6.07
5	24.25	Oxyde caryophyllène	C10H12O2	0.71
6	39.79	Acide 9- octadécénoïque	C18H34O2	5.03
7	40.12	Bis (2-éthylhexyl) phtalate	C24H34O4	0.81
8	41.21	Nonadécane	C19H40	13.49
9	44.85	Vitamine E	C29H50O2	6.64

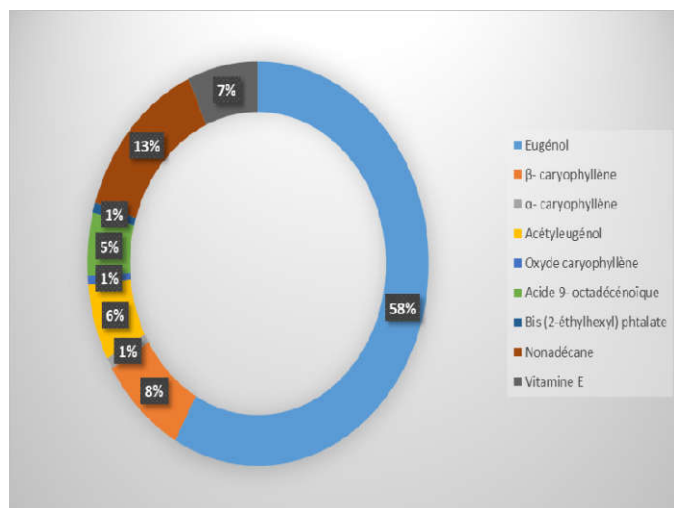


Figure 1 : Diagramme de la composition chimique de l'huile essentielle du clou de girofle

Activité antifongique de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* sur les trois souches obtenues

Les résultats obtenus ont montré que l'huile essentielle utilisée a inhibée totalement les différents isolats : *Aspergillus* sp; *Mucor* sp. et *Botryodiplodia* sp. A la plus petite dose de (25µl), l'inhibition de la croissance mycélienne est de 100% chez tous les isolats au bout de 10 jours (Tableau II et figure 2). De plus, les doses 50µl et 100µl appliqués, inhibent évidemment la croissance mycélienne dès le premier jour jusqu'au dixième jour. Ainsi le diamètre d'inhibition est égal à 100% (DI= 100%). La plus petite concentration pour laquelle nous obtenons aucune croissance radiale donc inhibitrice (CMI) est 25µl. Par ailleurs, aucune croissance n'a été observée après repiquage de la zone d'inhibition de toutes les boîtes de *Aspergillus* sp. ; *Mucor* sp. ; et *Botryodiplodia* sp. aux différentes doses de l'huile essentielle après 10 jours d'incubation par micro-atmosphère. Ainsi l'huile essentielle du clou de girofle est fongicide à partir de la dose de 25µl par micro-atmosphère (tableau III)

Tableau II: Taux d'inhibition de différentes souches en fonction de la dose

SOUCHES	VOLUMES	TAUX D'INHIBITION
<i>Aspergillus</i> sp.	25µ	100%
	50µ	100%
	100µ	100%
<i>Mucor</i> sp.	25µ	100%
	50µ	100%
	100µ	100%
<i>Botryodiplodia</i> sp.	25µ	100%
	50µ	100%
	100µ	100%

Tableau III: Paramètres antifongiques

SOUCHES	CMI	CMF
<i>Aspergillus</i> sp.	25µl	25µl
<i>Botryodiplodia</i> sp.	25µl	25µl
<i>Mucor</i> sp.	25µl	25µl

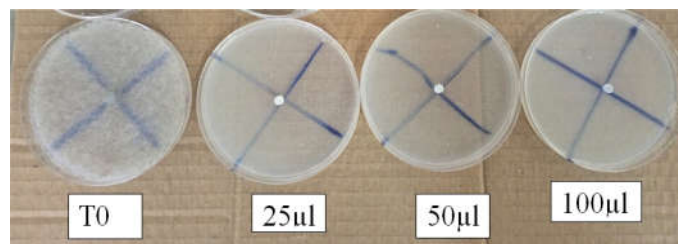


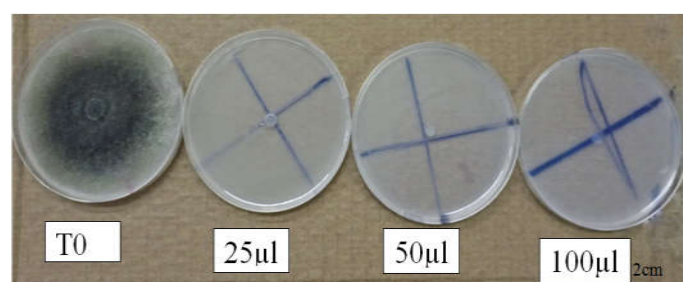
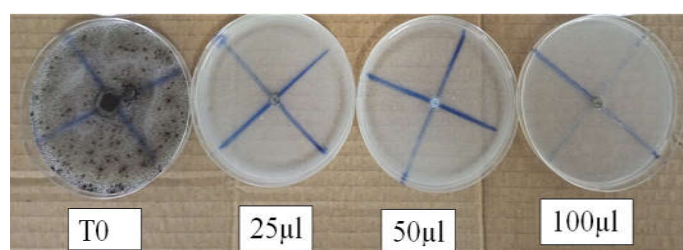
Figure 2: Effets dose-réponse de l'huile essentielle du clou de girofle sur *Aspergillus* sp, *Botryodiplodia* sp et *Mucor* sp

DISCUSSION

L'analyse chimique de l'huile essentielle du clou de girofle a mis en évidence la présence du β -caryophyllène, et leur dérivé oxyde de caryophyllène. Ces composés sont reconnus pour leurs propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoires et anticancéreuses, notamment via l'activation des récepteurs cannabinoïdes. Ce résultat est similaire à ceux de **Rather et al., (2012)** qui ont trouvé des teneurs en β -caryophyllène allant de 2 à 12% dans leur étude. Le clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) révèle une composition chimique dominée par l'eugénol (58,06 %). Cette forte concentration en eugénol pourrait expliquer le pouvoir antifongique (**Bouacida, 2021**). Ces résultats sont similaires à plusieurs études antérieures. Par exemple, **Chaieb et al., (2007)** ont rapporté que l'eugénol constitue entre 70% et 85% de l'huile essentielle de clou de girofle. La technique de micro atmosphère aurait permis une diffusion uniforme de l'huile essentielle entraînant une inhibition mycélienne de 100% de *Mucor* sp et *Botryodiplodia* sp. Nos résultats confirment bel et bien l'existence de cette activité et montrent que l'huile essentielle du clou de girofle possède une activité antifongique très significative. Par ailleurs, il est possible que d'autres composés présents dans l'huile essentielle de clou de girofle comme le β -caryophyllène, le α -humulène, l'Eugényl, acétate ou même le β -caryophyllène époxyde exercent un effet synergique avec l'eugénol renforçant ainsi l'inhibition de la croissance des champignons. L'activité antifongique par la méthode de micro atmosphère a été meilleur sur *Aspergillus* sp (avec 100% d'inhibition) que celui de **Bouzaa et al., (2022)** qui a présenté aussi une grande sensibilité par la méthode de contact en présence de l'extrait d'huile essentielle du clou de girofle mais n'est pas arrivé à inhiber totalement la croissance mycélienne. Ce qui pourrait être dus à la différence des méthodes. Dans la méthode de micro atmosphère, l'huile est utilisée dans toute sa concentration et son efficacité ce qui pourrait permettre de maximiser son pouvoir inhibiteur contrairement à la méthode par contact qui est mélangé avec la gélose, qui aurait un effet sur la réduction de son pouvoir inhibiteur à cause du pH du milieu gélosé et encore bien d'autres paramètres.

CONCLUSION

L'étude menée sur les propriétés antifongiques de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* contre trois champignons des denrées stockées a révélé des résultats extrêmement prometteurs. La technique de micro-atmosphère utilisée a permis d'observer une inhibition totale de la croissance mycélienne dès le premier jour de traitement, démontrant ainsi une efficacité exceptionnelle.



RÉFÉRENCES

- Bouzaa.F., Zid .H., Hariza.E .(2022).** etude des activités antimicrobiennes de l'huile essentielle de la plante *Syzygium aromaticum* Université frère Mentouri constantine I. 18 pages
- Rather. M. A., Dar. B.A., Sofi. S.N., Bhat. B. A., et Qurishi.M.A. (2012).** Foeniculum vulgare: A comprehensive review of its traditional use, phytochemistry, pharmacology, and safety. *Arabian Journal of Chemistry*, 9 (8), pp 1574-1583.
- Djermoun (2009)** : Production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques. *Nature et Technologie*. pp 45-53.
- Razika .B. (2022).** Rôle des céréales dans la sécurité alimentaire : cas du blé. Thèse page université sœur constantine d'Algerie 118 pages
- Razika.B.(2020).** le role des cereales dans la securité alimentaire (mémoire) université A.Mira bejaja Algerie 59 pages
- Chaïb.S., Pistevo . J. C. A., Bertrand, C., Bonnard . I.(2021) .** Allelopathy and Allelochemicals from Microalgae: An Innovative Source for Bio-Herbicidal Compounds and Biocontrol Research. *Algal Research*, <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102213>. pp 54-102.
- Amina. C., Fatma.Z., Viviana. M., Jamel.B. (2019) .** *Syzygium aromaticum* aqueous inhibits human neutrophils myeloperoxidase and protects mice from LPS-induced lung inflammation, *Pharmaceutical Biology* 57 (1) 55-63
- Annett. R., Habibi . H. R., Hontela . A.(2014).** Impact of Glyphosate and Glyphosate-based Herbicides on the Freshwater Environment. *Journal of Applied Toxicology*, 34 (5), 458–479.
- Besombes .C. (2008) .** Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermomécanique d'herbes aromatiques, Applications généralisées. Thèse de Doctorat, Université de La Rochelle. France. 116 pages
- Zaika.LL .(1988).** Epice et herbes : leur activité antimicrobienne et sa détermination. *Journal of Food Safety*, <https://www.ajol.info/index.php/srst/article/view/264148/249325>
- Chaieb. K., Hajlaoui. H., Zmantar. T., Kahla-Nakbi. A.B., Rouabhia. M., Mahdouani. K., & Bakhrouf. A. (2007).** The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): A short review. *Phytotherapy Research*, 21(6), 501-506.
- Bouacida k. (2021).** Étude de l'effet de l'eugénol extrait de la plante *Syzygium aromaticum* sur le biofilm dentaire, Mémoire de Mastère : Biotechnologie végétale, Département de biologie, Université de Sfax, 64.
