

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI-OUZOU



Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département de Biologie Animale et Végétale

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Option : Génétique et Amélioration Végétale

Extraction des polyphénols à partir de quelques espèces lichéniques

Présenté par : - M^{elle} BENALI LYNDA.

-M^{elle} TAZEKRIT NAWAL.

M ^{me} TALEB. K	M.C.B UMMTO	Présidente
M ^{me} SAHMOUNE.F	M.AC.C.A UMMTO	Promotrice
M ^{me} ABDELAOUI.K	M.A.C.C.A UMMTO	Examinatrice
M ^{me} HEDJAL.M	M.C.A UMMTO	Examinatrice

Promotion : 2015/2016

Introduction.....	1
Chapitre I : Généralité sur les lichens	
I-1 –Définition	3
I-2- Morphologie des lichens	3
I-3-Anatomie des lichens.....	4
I-3-1- Les organes spéciaux du thalle lichénique.....	8
I- 3-2-Les organes portés par la face inférieure du thalle.....	8
I-3-3- Les organes portés par la face supérieure du thalle.....	9
I-4- La reproduction.....	10
I-4- 1- La reproduction végétative	10
I-4-2- La reproduction sexuée.....	12
I-5- La symbiose lichénique	14
I-5-1- Définition.....	14
I-5-2- Les constituants des lichens.....	14
I-6- Les rapports algues- champignons et nature de la symbiose lichénique.....	14
I-6-1- Rapport cytologique.....	14
I-6-2- Rapport métabolique.....	15
I-7- Ecologie des lichens.....	16
I-7-1-facteurs substratiques.....	17
I-7-2- facteurs climatiques	17
I-7-3- Facteurs biologiques	18

Chapitre II : Biochimie des lichens

II-1 La nature des substances lichéniques	18
II-1-1- La voie acétate – malonate	18
II-1-2 - La voie mévalonate	18
II-1-3 - La voie de l'acide shikimique	18
II-4- Importance des substances lichéniques	22

Chapitre III : Utilisation des lichens

III-1 : Lichens en thérapeutique.....	23
III-2 : Lichens et nourriture	23
III-3 : Lichens et l'industrie	23
III-3 1- Matière colorantes.....	24
III-3-2- Les mucilages.....	24
III-3-3- les parfums.....	24
III-3-4- Glucose et alcool.....	24
III-3-5- Décoration.....	24

Chapitre IV : Matériel et méthodes

I-Matériels	25
II- Méthodes	27
II-1- Identification de l'espèce lichénique	27
II-2- Extraction des substances lichéniques	30
II- 3- Isolement du composé majoritaire	30
II-4-La microcristallisation	31
III- Interprétation	33
III -1- Détermination des calculs frontaux de quelques espèces	33
III-2- Identification des composés lichéniques par la microcristallisation	37
Conclusion générale	42

C : Hypochlorite de calcium ou de sodium

Carbonate de potassium (**K₂CO₃**) 20 g

CCM : Chromatographie sur couche mince

CM : Composé majoritaire

EL : l'extrait lichénique

GAAn = Aniline - Glycérol - Éthanol (1-2-2)

GAW = Glycérol - Éthanol - Eau (1-1-1)

GE = Glycérol - Acide acétique glacial (3-1)

K : Potasse

KK = Hydroxyde de potassium (KOH) 5 g

L1 : distance parcourue par le composé

L2: distance parcourue par le front du solvant

P : Paraphénylènediamine

Rf 1 :L'extrait lichénique de *Cladonia*

Rf 1' : Composé majoritaire de *Cladonia*

Rf 2 :L'extrait lichénique de *Ramalina fraxinea*.

Rf 2' : Composé majoritaire de *Ramalina fraxinea*

Rf 3 :L'extrait lichénique d'*Evernia prunastri*

Rf 3' : Composé majoritaire d'*Evernia prunastri*

Rf 4' : Composé majoritaire de *Parmelia acetabulum*

Rf 5 : L'extrait lichénique de *Parmelia pastillifera* .

Rf 5' : composé majoritaire de *Parmelia pastillifera*

Rf : Rapport frontal

Rf4 :L'extrait lichénique de *Parmelia acetabulum*

Figure 01 : structure homéomère de <i>Collema tenax</i>	5
Figure 02 : Structure hétéromère stratifiée de <i>Lobaria pulmonaria</i> : coupe transversale du thalle (TIEVANT, 2001).....	7
Figure 03 : Structure hétéromère radiée : coupe transversale du thalle. (TIEVANT, 2001).....	8
Figure 04 : coupe transversale d'une soralie de <i>Lobaria scrobiculatal</i>	11
Figure 05 : Coupe transversale d'une isidie de <i>Peltigera</i>	12
Figure 06 : section d'une apothécie.....	13
Figure 07 : Périthèce d' <i>Arthopyrenia alba</i>	13
Figure 08 : Relations nutritionnelles entre les constituants du les lichens et le milieu extérieure	16
Figure 09 : Relations nutritionnelles entre les constituants du les lichens et le milieu extérieure (SOUCHON, 1970).....	21
Figure 10 : Localisation du site de prélèvement (TIKDJA).....	25
Figure 11 : Localisation du site de prélèvement (YAKOUREN).....	26
Figure 12 : Localisation du site de prélèvement (TAKSEBT).....	27
Figure 13 : l'obtention d'un extrait lichénique.....	30
Figure 14 : l'obtention d'un composé majoritaire de lichen après évaporation.....	31
Figure 15 : résultats des plaques pulvérisées par la solution alcoolique (Fe c13) trichlorofirique.....	35

Liste des tableaux

Tableau 1 : résultats de migration des substances lichéniques pulvérisé par l'acide sulfurique (CCM 1).....	33
Tableau 2 : résultats de migration des substances lichéniques pulvérisé par la solution alcoolique (C.C.M 2).....	34
Tableau 3 : résultats de migration des substances pulvérisé par la solution alcoolique (C.C.M 3).....	36

Les lichens sont des végétaux très répandus dans la nature appelés aussi champignons lichénisés, ce sont des organismes résultant d'une symbiose entre un champignon hétérotrophe appelé mycosymbiote, et un ensemble de cellules microscopiques possédant de la chlorophylle (algues vertes ou cyanobactéries autotrophes) appelées phycosymbiotes (JODRA, 2005).

Cette association est durable, reproductible, avec des bénéfices réciproques pour les partenaires entraînant des modifications morphologiques et physiologiques (VAN HALUWYN ET LEROND, 1993).

Les mycosymbiotes a un rôle déterminant dans la morphologie et assure la reproduction sexuée par la production des spores. En plus, il apporte les éléments minéraux nécessaires aux lichens (VAN HALUWYN ET LEROND, 1993). Le photosymbiote apporte par le biais de la photosynthèse les matières organiques. Cette association symbiotique permet la production d'une large gamme métabolites secondaires ou substances lichéniques qui sont des polyphénols libérés dans l'espace extracellulaire et cristallisent sur ou près de la surface des hyphes (HONEGGER ,1986).

C'est dans ce contexte, que nous nous somme proposés d'étudier l'extraction de ces substances lichéniques à partir de cinq espèces lichéniques différentes sur le plan structural récoltées à des altitudes différentes. Des essais d'identification par chromatographie sur couche mince et par cristallisation de ces substances ont été réalisés.

Dans le premier chapitre, nous allons présenter d'une manière générale la morphologie des lichens ainsi que la cytologie et la physiologie de ces organismes.

Pour cela, nous allons évoquer brièvement les différentes formes de thalles sous lesquelles le lichen peut attester dans la nature, ses modes de reproduction, sa croissance et sa nutrition.

Pour clôturer ce chapitre, nous allons présenter un aperçu rapide sur l'écologie des lichens, leurs groupements lichéniques.

Le deuxième chapitre est consacré à l'étude des substances lichéniques élaborées par ces organismes.

Dans le troisième chapitre nous avons cité les usages des lichens dans différents domaines

Le quatrième chapitre est consacré au matériel et méthodes utilisés au cours de notre expérimentation

Enfin, dans le dernier chapitre, nous avons interprété les résultats obtenus, ces substances lichéniques ont d'importants propriétés pharmacologiques (anti- inflammatoire, antibiotique et antitumorale).

I-1- Définition

Les lichens font partie des thallophytes, vaste ensemble de végétaux dépourvus de tiges, feuilles et racines, et qui ne sont donc pas vascularisés (VAN HALUWYN et LEROND, 1993). Ce sont des végétaux complexes résultant de l'association intime et durable, autrement dit de la symbiose d'un champignon (mycosymbiote) avec un végétal chlorophyllien qui est soit un cyanophyte, soit plus fréquemment un chlorophyte (phycosymbiote) (DURUELLE et LALLEMANT, 1983).

I-2 -MORPHOLOGIE DES LICHENS

Le thalle est l'appareil végétatif des lichens, il assure la nutrition, l'entretien de la vie et la croissance. Le thalle des lichens présente une morphologie spécifique, différente de celle des algues et des champignons libres (TIEVANT, 2001).

Les différents types de thalles :

a-Thalles crustacés

Ce sont des thalles aplatis, adhérant au substrat, ils forment une croûte qui adhère fortement à l'écorce à tel point que seule la pointe d'un couteau peut permettre son détachement (80% des lichens sont des thalles crustacés).

EX : *Rhizocarpon epispilum*

b-Thalle squamuleux :

Ce sont des thalles formés par des sortes d'écailles plus ou moins rapprochées, contiguës ou même imbriquées, à bord n'adhérant pas au support (OZENDA, 1990). Ces thalles sont intermédiaires entre les thalles crustacés et les thalles foliacés.

EX : *Normandina pulchella*

c-Thalle foliacés

Ces thalles ressemblent à des petites feuilles, plus ou moins lobées qui se détachent facilement de l'écorce malgré sa possible fixation par des rhizines, les uns dits thalles ombiliqués (adhèrent au support par une surface réduite à peu près centrale), les autres non ombiliqués (adhèrent au support par la plus grande partie de leur surface).

EX : *Hypogymnia physodes*

d-Thalles fruticuleux

Thalles ramifiés, buissonnants adhérant à l'écorce par une surface réduite. Ils sont constitués soit de tiges cylindriques ou subcylindriques plus ou moins ramifiées, soit de lames ou de lanières entières ou déviées

EX : *Ramalina pollinaria*

e-Thalle complexe (composite)

Thalle formé de deux parties bien distinctes :

- Thalle primaire plus ou moins adhérent au substrat ; crustacé, squamuleux plus ou moins foliacée.
- Thalle secondaire fruticuleux et dressé développé secondairement sur le thalle primaire

EX : *Cladonia cristatella*

f-Thalle gélatineux

Le thalle gorgé d'eau constitue une masse gélatineuse. Quand il est sec, il devient noir et friable. Les filaments mycéliens sont associés à des cyanobactéries.

EX : *Collema subflaccidum*.

g-Thalle lépreux

Le thalle est constitué d'un ensemble de granules formés chacun de filaments mycéliens associés à quelques pleurocoques.

EX : *Lepraria incana*

I-3-ANATOMIE DES LICHENS

Il existe deux structures :

- Structure homéomère
- Structure hétéromère

a - Structure homéomère :

La répartition des constituants est assez homogène dans l'épaisseur du thalle mais avec une densité importante près de deux phases.

Cette structure caractérise surtout les thalles gélatineux.

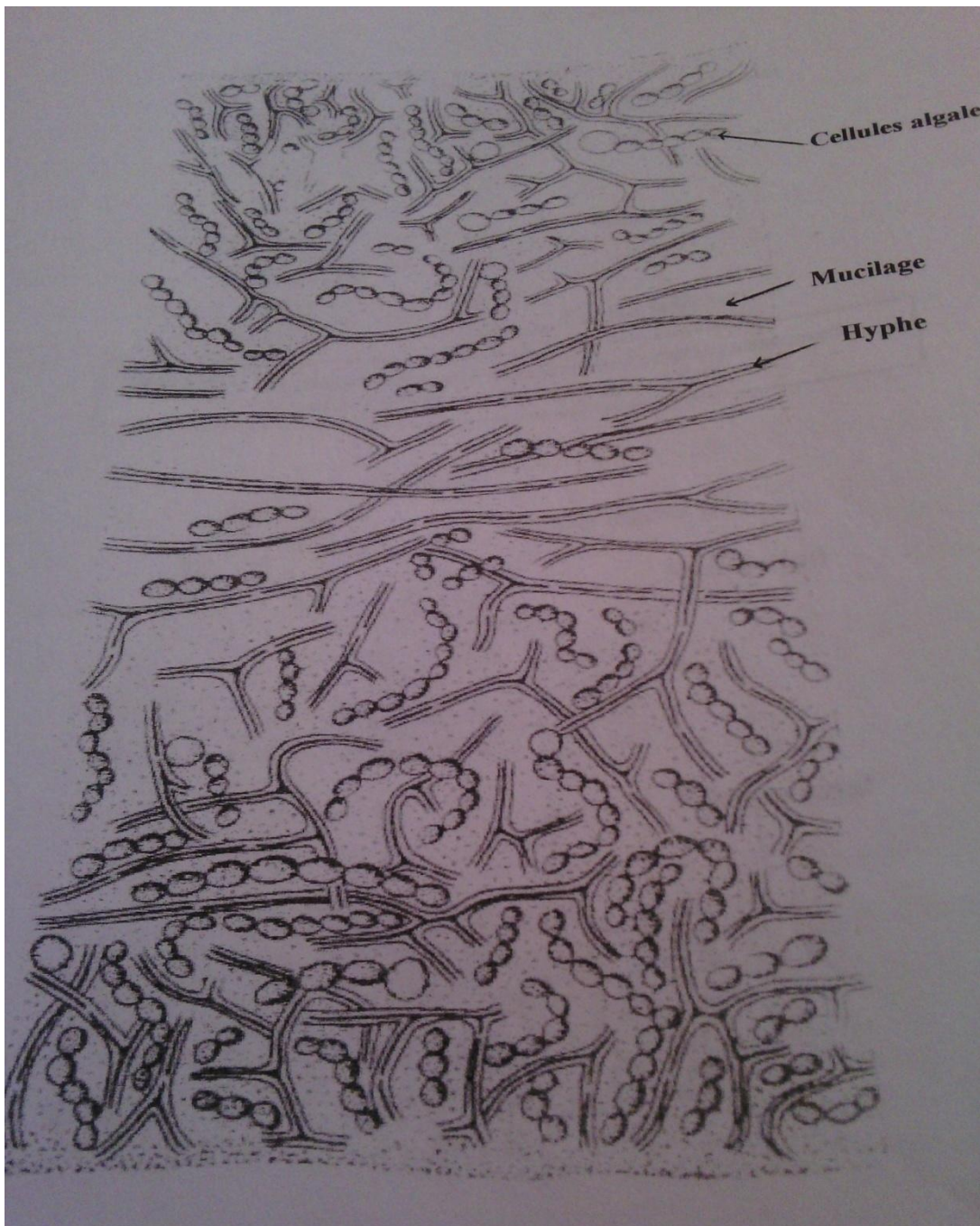


Figure1 : structure homéomère de *Collema tenax* (OZENDA et CLAUSADE ,1970)

b -Structure hétéromère

Elle est caractérisée par l'existence de plusieurs couches superposées bien visible sur une section transversale sauf dans la structure filamenteuse.

La photosymbiote constitue une zone bien délimitée entre les couches du mycosymbionte. Les couches sont superposées bien visibles sur une section transversale sauf dans la structure filamenteuse (LABERCHE, 1999).

Deux types de structures sont reconnus :

➤ **Structure stratifiée**

Correspond à la présence des couches superposées, une coupe transversale montre à partir de la phase supérieure

- Un cortex supérieur de nature fongique à hyphes très serrées.
- Une couche algale comportant également des hyphes beaucoup plus lâches.
- Une médulle à hyphes encore plus lâches.
- Un cortex inférieur à hyphes serrées.

EX : *Lobaria pulmonaria*.

La plupart des thalles foliacés, un grand nombre de thalles crustacés, très peu de lichens fruticuleux possèdent cette structure (OZENDA et CLAUZADE, 1970).

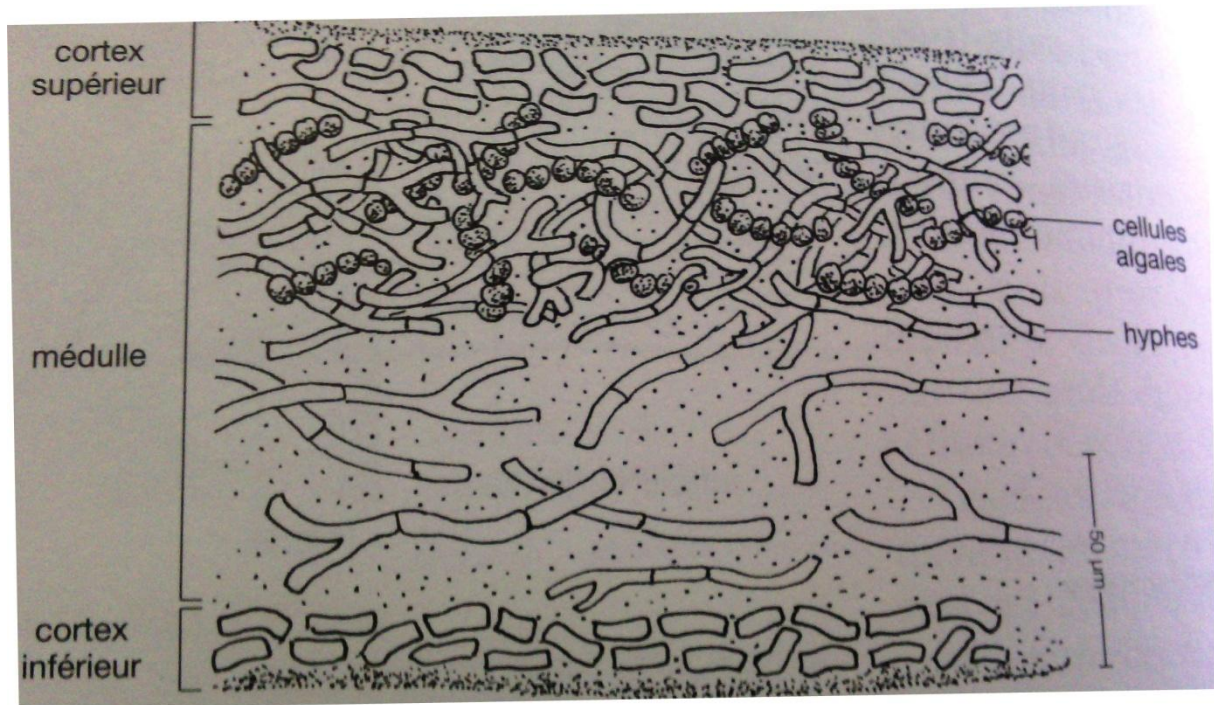


Figure02 : Structure hétéromère stratifiée de *Lobaria pulmonaria* (TIEVANT, 2001).

➤ Structure radiée

La majorité des lichens fruticuleux correspondent à une structure radiée où les couches sont disposées concentriquement, et la couche gonidiale fait tout le tour de la section transversale à l'exception de certains *Cladonia*, particulièrement le sous genre *Cladina*, la couche gonidiale est discontinue (OZENDA et CLAUZADE ,1970).

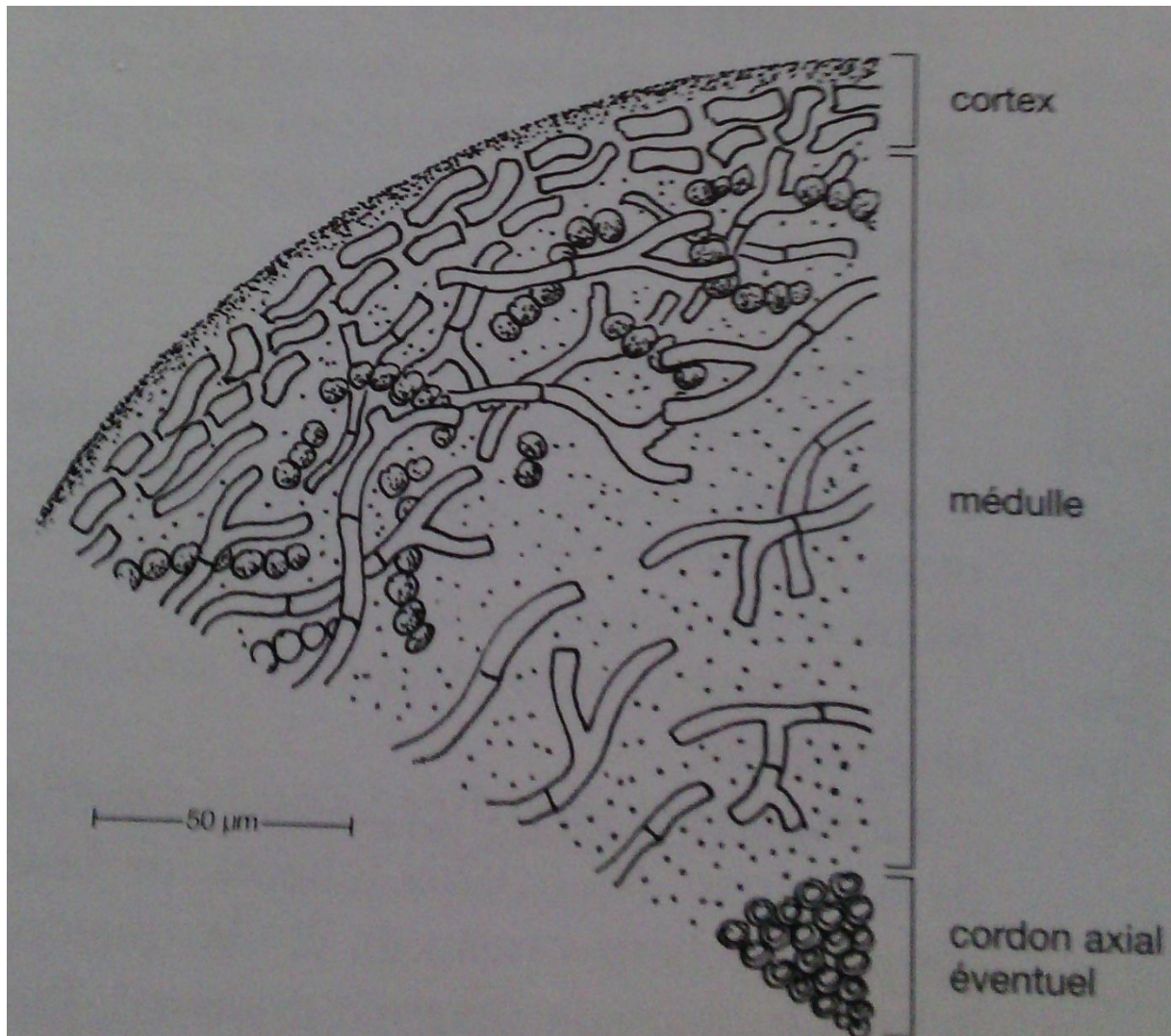


Figure 3: Structure hétéromère radiale : coupe transversale du thalle.

(TIEVANT, 2001).

➤ **structure filamenteuse**

Il s'agit d'un type de structure peu répandu, se rencontre chez les thalles filamenteux et chez quelques thalles, gélatineux, dont le thalle est constitué par des filaments de chlorophycée ou de cyanophycée revêtus par une gaine d'hyphes (OZENDA et CLAUZADE, 1970).

I-3-1- Les organes spéciaux du thalle lichénique

Il existe un certain nombre de petits organes portés soit par la face inférieure, ces organes sont très divers et ont des fonctions vitales importantes ; ils interviennent dans l'alimentation des espèces. (VAN-HALLUW et LEROND ,1993).

I-3 -2 Organes portés par la face inférieure du thalle

➤ Rhizines

Ce sont des organes de fixation allongés du thalle foliacé, simples ou ramifiés, ont une couleur claire ou foncée, formées d'un faisceau d'hyphes plus au moins soudés et recouverte d'une gaine gélatineuse, facilitent l'adhésion du thalle au substrat.

Il existe chez plusieurs espèces, (GENEVES ,1990).

➤ Poils

Sont constitués par les extrémités libres d'hyphes, appartenant principalement au cortex inférieur ou en l'absence de celui-ci à la médulle. On les rencontre surtout chez les lichens foliacés comme chez *Lobaria*, ou ils sont longs et incurvés un peu. On peut aussi en observer sur la face supérieure, par exemple chez *Parmelia glabra*.

(OZENDA et CLAUZADE ; 1970).

➤ Veines

Constituent un réseau plus ou moins saillant, portant souvent des rhizines ou un tomentum. Elles caractérisent les espèces de genre *peltigera*

➤ Cyphelles

Ce sont des dépressions arrondies ou allongées, de teinte blanchâtre, ne sont connues que chez les *Sticta* où le fond de la dépression est revêtu d'un cortex modifié, formé de cellules globuleuses ménageant entre elles des espaces vides (OZENDA et CLAUZADE ,1970).

➤ Pseudocyphelles

Ce sont des ouvertures du cortex inférieur et supérieur laissant apparaître la médulle. Elles ont un rôle important dans les échanges gazeux avec l'atmosphère, sont beaucoup plus répandues, par exemple chez *Ramalina* (GENEVES, 1990).

I-3-3- Organes portés par la face supérieure du thalle

➤ Cils

Ils ont la même structure que les rhizines, de teinte habituellement sombre, visible à l'œil nu, constituées par les prolongements de plusieurs hyphes accolés se trouvent généralement sur le bord des thalles foliacés notamment chez les *Parmilia acetabulum*.

➤ **Fibrilles**

Ce sont des ramifications filamenteuses courtes, collées au thalle et sont toujours bien visibles à l'œil nu, se trouvent par exemple chez *Usnia Florid*. (OZENDA et CLAUZADE, 1970).

➤ **Nodules**

Appelées également tubercules, sont de simple saillies, souvent de forme irrégulière, et toujours moins haute qu'épaisse, sont surtout rencontrées chez les les *Usnea*. (OZENDA et CLAUZADE, 1970).

➤ **Papilles**

Sont des petites protubérances, uniquement constituées de cortex, visible à la loupe, plus haute que larges, situées entre les fibrilles sur le thalle des usnées.

➤ **Céphalodies**

Se sont des sortes de verrues en générale cortiquées, se trouvent chez les espèces dont les gonidies sont des chlorophycées telles que *Peltigera aphthosa*.(OZENDA et CLAUZADE, 1970).

I-4- Reproduction

Il existe deux modes de reproduction végétative et sexuée :

I-4-1- La reproduction végétative

Elle est réalisée grâce à la présence au niveau du thalle, des structures organisées contenant l'algue et le champignon : ce sont les soralies et les isidies.

- **les soralies** : ce sont des déchirures du thalle, laissent échapper des granules appelés sorédies contenant l'algue et le champignon. Ces sorédies peuvent être disséminés par le vent, la pluie, les insectes, les animaux et l'homme.

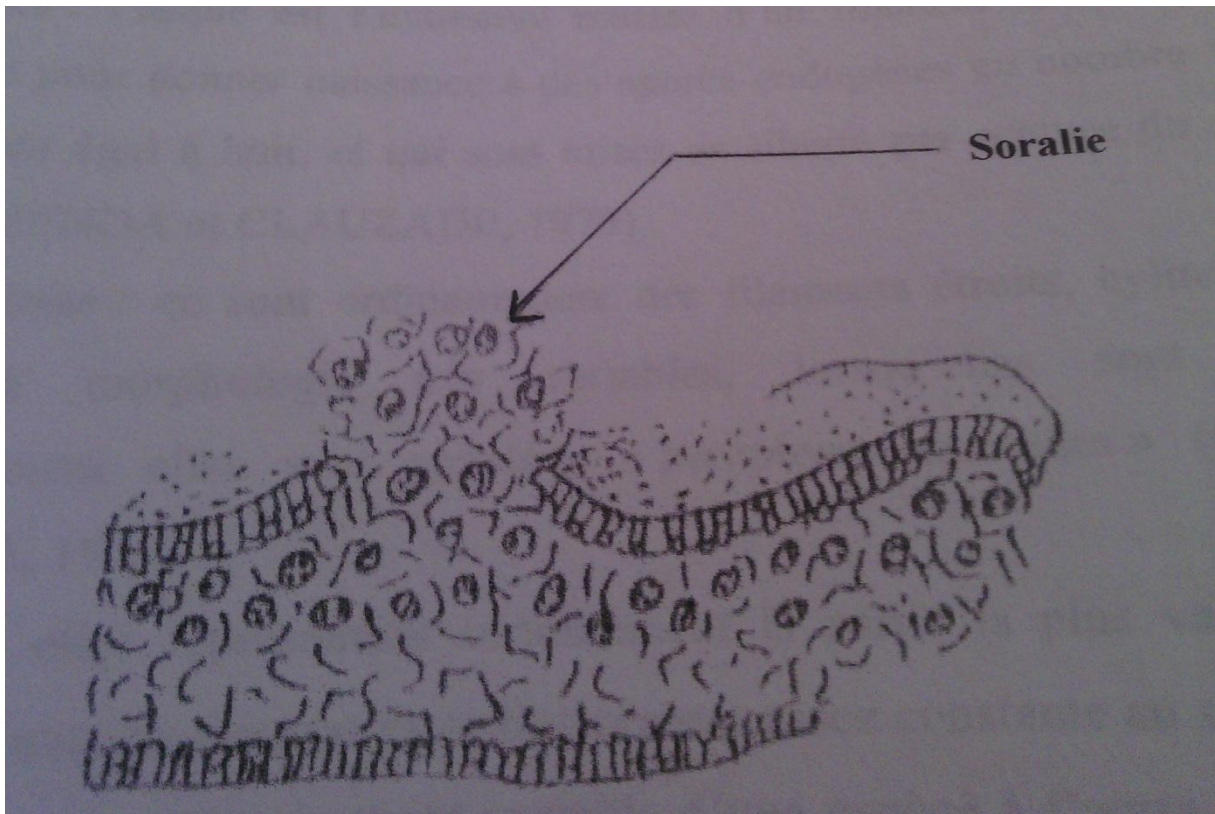


Figure 04: coupe transversale d'une soralie de *Lobaria scrobiculata*

(ABBAYES in OZENDA et CLAUZADE, 1970)

Les isidies : ce sont des excroissances du thalle, se rompent aisément et sont disséminées.

En conditions sont favorables, isidies et sorédies seront à l'origine de nouveaux thalles

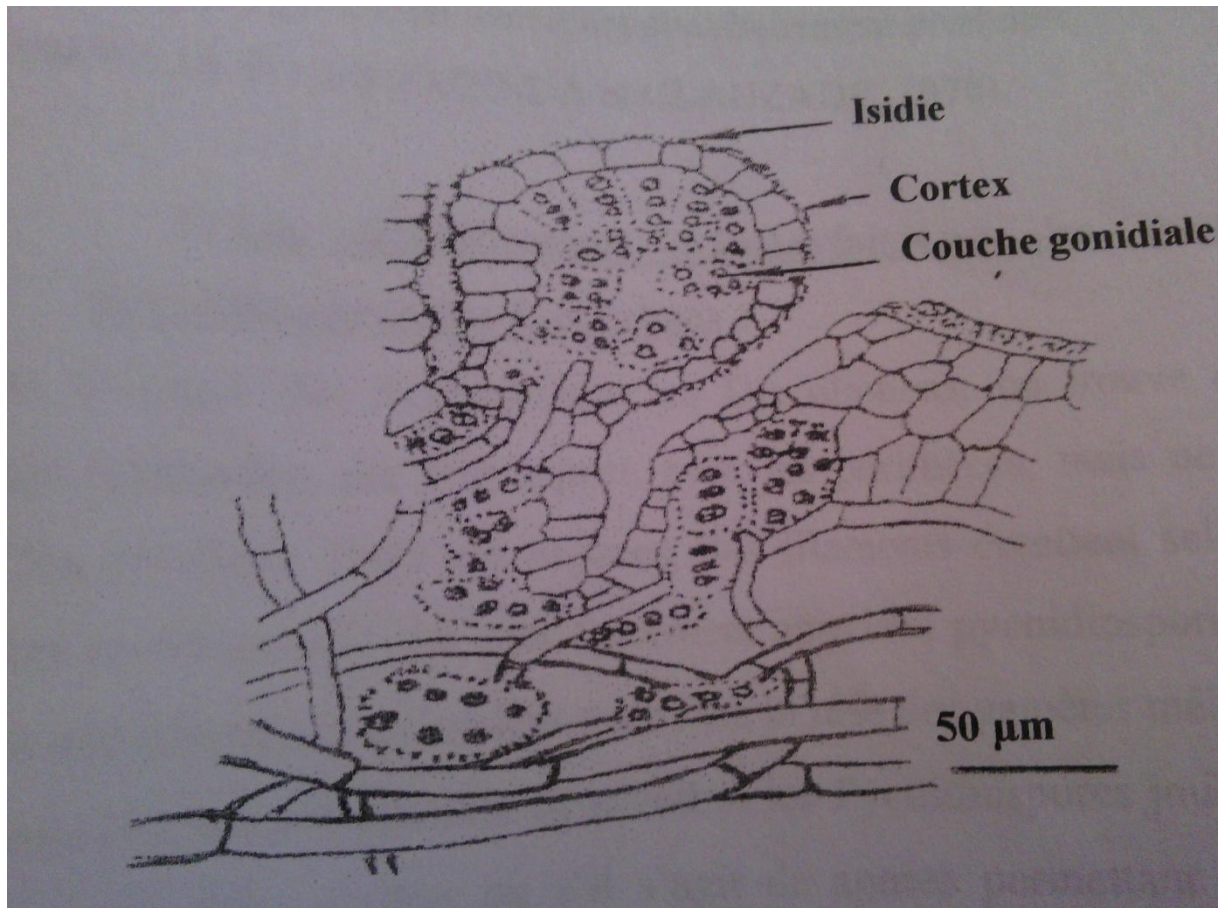


Figure 05 : Coupe transversale d'une isidie de *Peltigera* (GORENFL, 1975).

I-4-2 La reproduction sexuée

La reproduction sexuée est complexe et aboutit à la formation de spores dans des organes du champignon appelés :

- **Apothecies** : organe en forme de coupes.

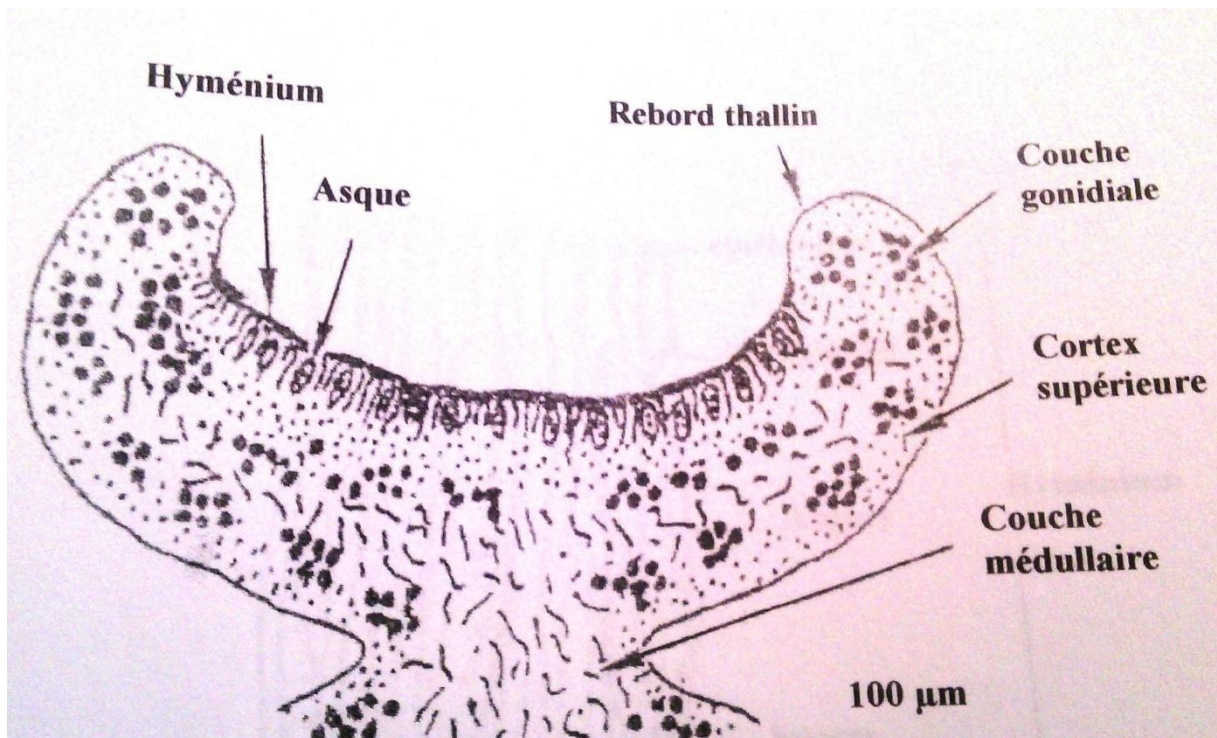


Figure 06: section d'une apothécie (ABBAYES, 1978).

- **peritheces** : fructification en forme de petite sphère ou poires enfoncés dans le thalle.

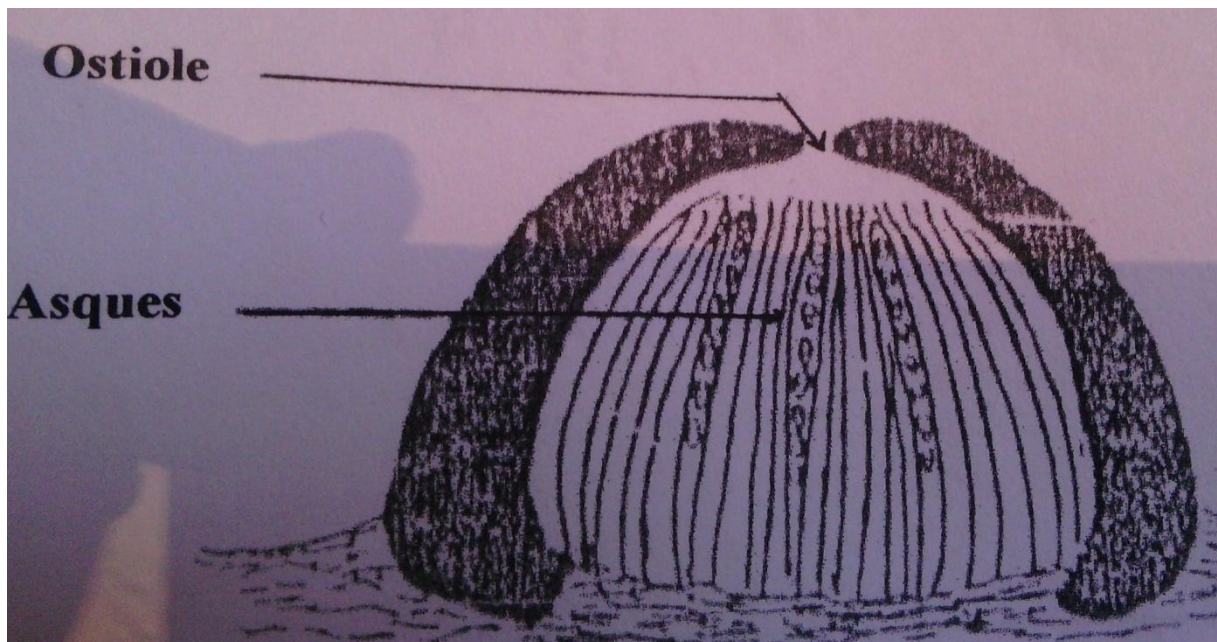


Figure07 : Périthèce d'*Arthopyrenia alba* (ABBAYES , 1978).

- **lirelles** : sont des apothécies allongées qui peuvent être plus ou moins enfoncées dans le thalle, ou saillantes.

I-5- La symbiose lichénique

I-5-1- Définition

La symbiose de grec (Sun : avec et bios : vie), c'est l'association entre l'algue et le champignon dans l'organisme des lichens (BARY ,1979), cette association symbiotique constitue des organismes stables considérés comme des espèces individualisées.

I-5-2- Les constituants des lichens

Le lichen est une association d'un élément fongique et d'un élément algal, forme nouvelle qui résulte des interactions entre ses constituants (biomorphose).il s'agit donc d'un binôme qui doit d'abord être analysé du point de vue des phytosymbiote (algues) et mycosymbiotes (champignons) qui le composent (TIEVANT, 2001).

➤ **Le mycosymbiote**

Le champignon lichénisant est hétérotrophe, inconnu à l'état libre joue un rôle dans la reproduction sexuée et dans la morphologie. Il possède un grand pouvoir d'absorption, de stockage et de sels minéraux qu'il fournit à l'algue.

Il existe 64 200 espèces de champignons connues, 13 500 sont lichénisées.

➤ **Le photosymbiote**

L'algue des lichens est « l'associé interne » encore appelé gonidie, chlorophyllienne, autotrophe, et qui réalise les synthèses organiques (DERUELLE et LALLEMANT ,1983).

La majorité des algues contractant une alliance symbiotique sont des Chlorophycées.

I-6- Les rapports algues-champignon et nature de la symbiose lichénique

Un lichen résulte de l'association symbiotique entre une algue chlorophyllienne microscopique et un champignon, ce dernier représentant plus de 90 % du lichen. La symbiose signifie qu'il y a des échanges bénéfiques au niveau nutritionnel entre l'algue et le champignon.

I-6-1 - Rapport cytologique

Dans le thalle lichénique c'est seulement dans la couche dite gonidiale que les cellules algales et les hyphes voisinent.il existe entre eux divers types de relations, allant depuis un

simple contact jusqu'à la pénétration des suçoirs mycéliens dits haustoriens à l'intérieur même de l'algue (SOUCHON, 1971).

Les relations morphologiques entre les deux composantes sont très différentes suivant les espèces :

La microscopie électronique permet de visualiser les relations morphologiques existant entre le mycosymbiote et le photosymbiote. Les contacts sont réalisés par des suçoirs microscopiques appelés haustoria. Ces haustoria sont des excroissances de l'hyphe entrant en contact avec la cellule algale grâce à des lectines qui sont des glycoprotéines d'origine fongique. (VAN- HALLUWYN et LEROND, 1993).

I-6-2 - Rapport métabolique

Les rapports d'ordre trophique entre le thalle lichénique et le substrat ou entre les deux protagonistes, sont complexes et varient dans le temps et l'espace, ainsi que selon les stations, il ressort de besoins respectifs de l'un et de l'autre dont beaucoup sont encore à préciser ou même à dégager (GORENFLOT et GUEREN, 1989).

L'activité photosynthétique de l'algue produit des glucides utilisés par l'ensemble de thalle.

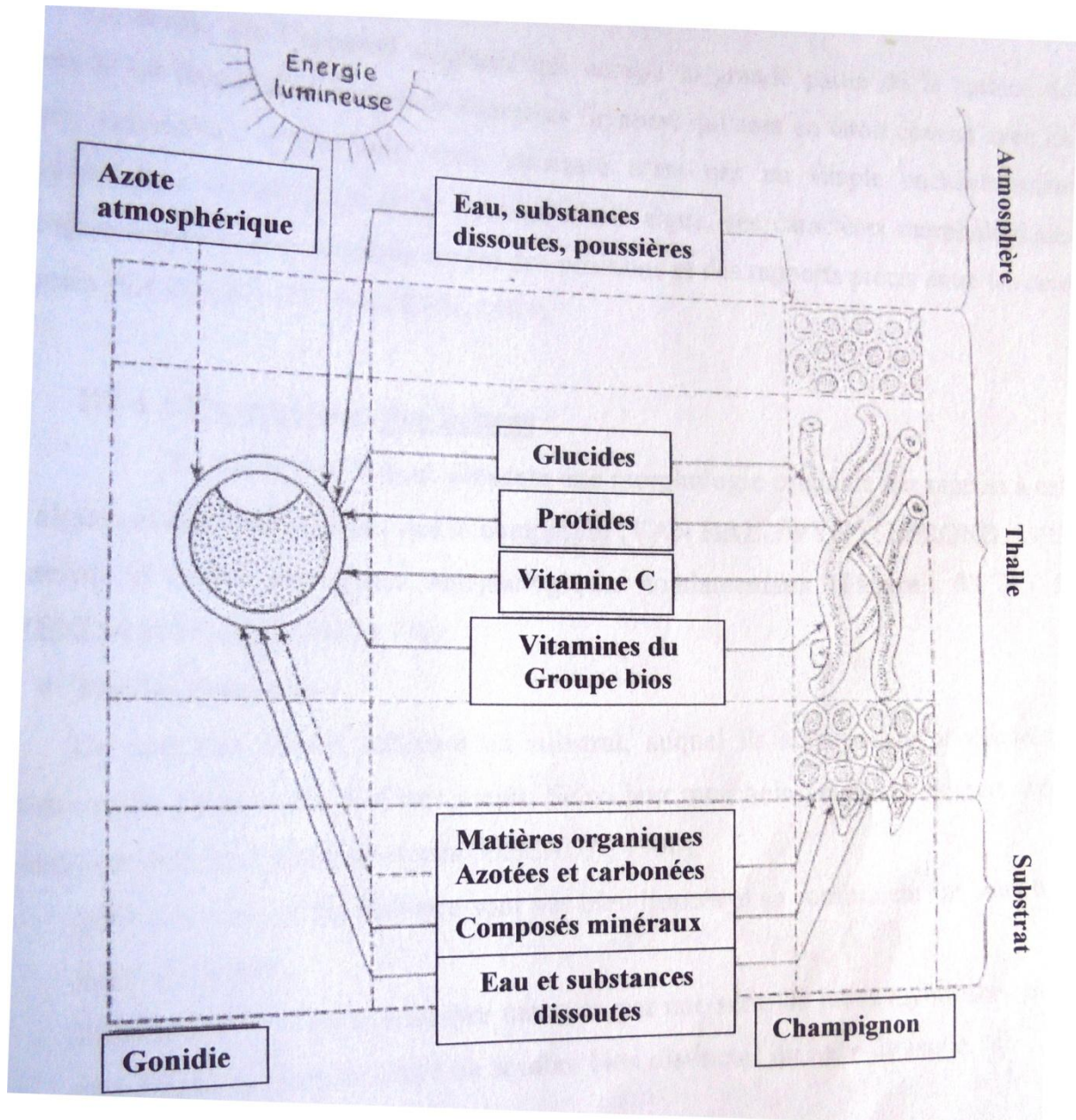


Figure8 : Relations nutritionnelles entre les constituants du les lichens et le milieu extérieure (SOUCHON, 1970).

I-7-Ecologie des lichens

Les lichens sont des végétaux assez cosmopolites, très sensibles aux caractéristiques de l'atmosphère, sont considérés dans leur ensemble constituent un groupe très plastique. par contre, chaque espèce a ses exigences propres et sa répartition est tributaire des facteurs écologiques, facilement regroupés en trois ensembles : les facteurs substratiques, climatiques et biologiques (VAN HALUWYN et LEROND ,1993).

La flore lichénique riche en espèces de forme et de couleur très variées (KIRSCHBAUM et WIRTH, 1997).

Parmi les facteurs influençant la localisation des Lichens, on distingue des facteurs édaphiques liés à la nature et aux propriétés du substrat, des facteurs climatiques et des facteurs biologiques.

I-7-1-facteurs substratiques

La nature de substrat est prépondérante ; pour cela il existe des lichens

- **Corticoles** : qui vivent sur l'écorce des arbres, ainsi on distingue deux types de thalles
 - **Thalle epiphléode** : se développe sur la surface de l'écorce.
 - **Thalle hypophéolide** : pénètre à l'extérieur de l'écorce.
- **Saxicoles** : qui pousse sur des surfaces rocheuses et les toitures.
- **Terricoles (humicoles)** : qui poussent sur des terres ou des sols de différentes natures (sols alcalins, neutres ou arides).
- **Musciocols** : qui croissent sur les débris végétaux et des mousses. Ils se rencontrent aussi sur le sol que sur les arbres ou les rochés.
- **Lignicoles** : qui se développe uniquement sur les bois.
- **Folicoles** : sont presque tous crustacés. Ils se développent sur la surface des feuilles résistantes par le biais de prolongement d'hyphe qui atteignent le parenchyme chlorophyllien.

I-7-2- facteurs climatiques

Comme pour les plantes supérieures, les facteurs physiques et leurs variations commandent la présence ou l'absence de certaines espèces de lichens:

- Des espèces requérant une forte humidité atmosphérique dites aérohygrophiles

EX : les lichens fruticuleux

- Des espèces exigent un substrat fortement ou fréquemment mouillé dites substratohygrophiles

EX : les lichens foliacées.

- Des espèces tolèrent une submersion temporaire ou constante dites hygrophiles et aquatiques

EX : *Dermatocarpon*

- Des espèces vivent dans des milieux peu humides et même secs dites mésophiles et hypohygrophiles
- Les lichens préfèrent pratiquement les stations éclairées et les lieux ombragés.

I-7-3- Facteurs biologiques

L'action des autres êtres vivants est également déterminante dans la répartition des lichens, soit parce qu'ils disputent leur place, détruisent ou modifient les conditions de milieu ou au contraire favorisent leur dissémination (VAN-HALUWYN et LEROND, 1993).

- Les lichens foliacés et fruticuleux croissent fréquemment en mélange avec des Mousses et des Hépatiques et sont certainement en compétition avec elles, et aussi avec des plantes supérieures.
- L'action des animaux et principalement de l'homme (facteurs anthropozoïques) se manifestant surtout mécaniquement : Piétement (fragmentation de thalles) et chimiquement (enrichissement de l'atmosphère et du substrat en ammoniac, sels, nitrates, phosphates,..) (OZENDA et CLAUZADE, 1970).

II- Biochimie des lichens

L'étude biochimique des lichens a conduit à la mise en évidence des substances fondamentales communes à tous les êtres vivants, entrant dans la composition de cellules et des membranes. Elle fait, également apparaître certains traits originaux, notamment les produits rejetés à l'extérieur des cellules dont certains très particuliers n'appartiennent qu'aux lichens. Ce sont les substances lichéniques (SOUCHON, 1971).

II-1 biosynthèse des substances lichéniques

Il existe trois voies de synthèses à la base de nature chimique et la biogenèse de substances lichéniques. Ces composés sont synthétisés par le champignon et le carbone nécessaire à leur biosynthèses est formé par l'algue via les sucres ou les polyols issus de la photosynthèse. Cette diversité chimique est réalisée à travers trois voies de synthèse qui correspondent à l'équipement enzymatique du champignon et qui sont inégalement fonctionnelles selon les espèces :

- La voie des polyacétates – polymalonates
- La voie du mévalonate
- La voie du shikimate

Selon les espèces, telle ou telle autre voie sera achevée et il est fréquent de trouver un ensemble de molécules apparentées, ce que l'on appelle chémosyndrome.

II- 1-1-La voie acétate – malonate

Cette voie est à l'origine du plus grand nombre d'acides lichéniques répartis dans environs 13 classes chimiques différentes (les composées aromatiques).

La molécule associée à cette voie dérive de l'accumulation d'un composé issu du métabolisme primaire : l'acétyle- ScoA.

- **Les composées aromatiques**

1-l'acide usnique et ses dérivés : l'une des substances la plus répandue.

2-Les depsides : sont des esters de deux acides phénols qui dérivent soit de l'orcinol (acide lecanorique) soit du β orcinol (atranorine).

3-Les depsidones : dérivent des depsides par une phénol-oxydation ex : l'acide norstictique présent chez *Parmelia acetabulum* et utilisé comme substance témoin en chromatographie.

4-les depsones

5- les dibenzofuranes

6- les dibenzoquinones

7-les anthraquinones : elles sont moins spécifiques des lichens parmi celles - ci : la Pariétine (*Xanthoria parietina*)

8- les Xanthones

9- les naphthoquinones

10- les chromones

❖ Les acides aliphatiques et lactones

11- Acide capératique

12- Acide roccélique

13- Acide protolichestrique

II-1-2- La voie mévalonate

Cette voie conduit essentiellement aux di- et triterpènes EX : Zéorine, aux stéroïdes et aux caroténoïdes.

Ils sont absolument spécifiques et ne se rencontrent seulement chez les lichens.

II-1-3-La voie de l'acide shikimique

Elle donne naissance notamment à trois substances non spécifiques aux lichens :

-l'acide polyporique : présent chez le genre *Sticta* et certains polypores (champignons non lichénisants).

- l'acide théléporique : rencontré chez *Lobaria pulmonaria* et chez une Hydnacée (champignon non lichénisants)

- l'acide pulvinique et ses dérivés : *Letharia vulpina* renferme de l'acide vulpinique rencontré également chez certains Boléales, champignons non lichénisants.

II-1-4- Localisation des substances lichéniques

Les substances lichéniques ou métabolites secondaires sont localisées dans le cortex (c'est le cas l'atrororine, ainsi que de nombreux pigments tel que l'acide usnique), la médulle et la couche algale telles que des substances incolores :Depsides et depsidones.

Ces substances une fois libérés s'accumulent à la surface des hyphes fongiques et cristallisent ultérieurement. Comme il a été rappelé plus haut, ces polyphénols sont produits exclusivement par le mycobionte.

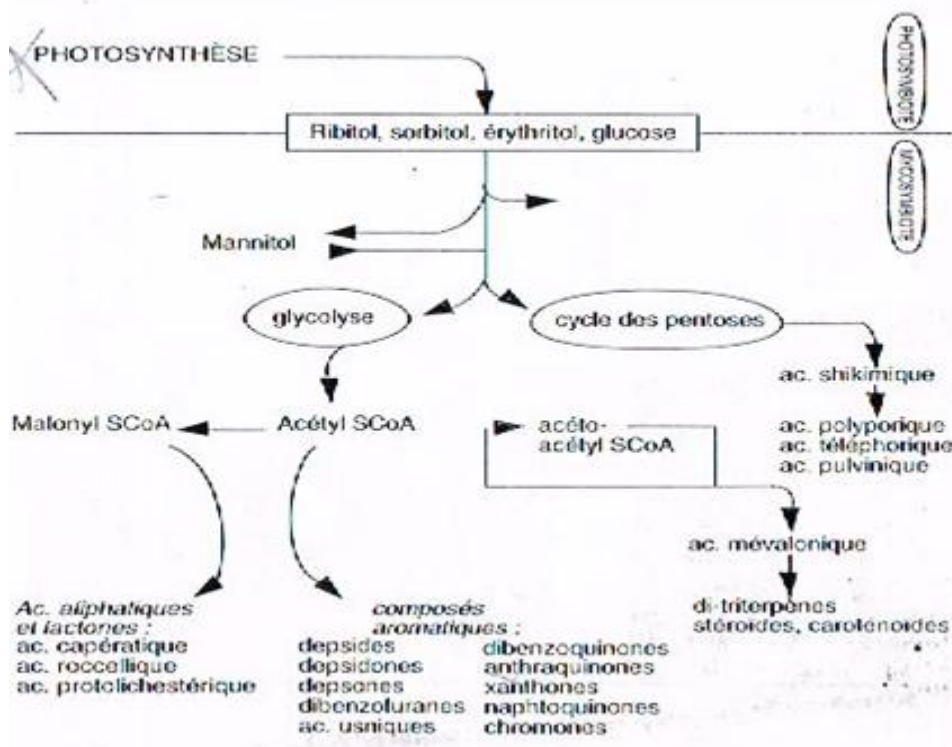


Figure09 : Biogenèse des substances lichéniques (MOSBACH 1967 et HENSSEN et JAHNS 1974)

II-2 - Importance des substances lichéniques

Le lichen tire profit de caractéristiques suivantes des substances lichéniques

- **Hydrophobie** : les substances lichéniques contribuent au maintien de l'équilibre hydrique du thalle en limitant l'évaporation de l'eau à la surface du thalle et en contrôlant les voies de transfert à l'intérieur du thalle.
- **Propriétés chélatantes** : peuvent assurer une certaine protection par chélation des métaux lourds essentiellement présents dans le milieu.
- **Conversion des radiations lumineuses** : par la présence d'atranorine dans le cortex supérieur, les longueurs d'onde inutilisables par la photosymbiote sont modifiées et deviennent alors utilisables.

-protection de l'algue le mycosymbiote du cortex supérieur contre en ensoleillement trop intense.

- **Régularisation de l'activité photosynthétique de l'algue** : les substances lichéniques régulent l'activité photosynthétique de l'algue selon divers mécanismes. Elles permettent ainsi au mycosymbiote de maintenir la population algale dans une couche d'épaisseur uniforme tout au long de la vie d'un thalle.
- **Propriétés antibiotique** : En générale, les substances lichéniques inhibent la germination des graines (dans certains cas elles peuvent stimuler la germination). Cette action inhibitrice s'observe également sur les spores de Bryophytes.
- **Propriétés antiherbivores** : protection contre les herbivores par production de substances toxiques. (LAWREY, 1986).

Ces substances lichéniques ont aussi d'autres propriétés pharmacologiques (anti-inflammatoire, antibiotique, antitumorale).

III-Utilisation des lichens

Les lichens ont été utilisés dès l'Antiquité comme plantes médicinales, généralement à tort, et pour une foule d'usages alimentaires ou artisanaux. Ils ont été employés comme nourriture pour l'homme ou le bétail, mais seulement dans les régions très pauvres. De nos jours ils ont un rôle relativement important dans l'économie locale. Toutefois leur utilisation possible comme source d'antibiotique.

III-1- Lichens en thérapeutique

Les lichens ont été employés comme médicaments dans :

- le traitement des affections pulmonaires.
- La couleur jaune du *xanthoria parietina* le désignait pour hâter la guérison des jaunisses.
- Les lichens barbus empêchent la chute des cheveux et même permettent leur repousse
- *Parmelia saxatilis* a été utilisée pour combattre les crises d'épilepsie et contre les maux de tête.
- *Cetraria islandica* est utilisée contre les maux de gorge ou la toux et contre le diabète et les vomissements.
- les lichens ont des propriétés anti tumorales (KOAYAMA et al.1989) et inhibitrices des répliquions de virus HIV (HIRABAYASHI et al .1989).

III-2 Lichens et nourriture

- Dans l'alimentation humaine *Cetraria islandica* « Mousse d'Islande », a été utilisée sous forme de farine qui peut être incorporée au pain ou mélangée à du lait, et parfois employée comme ingrédient en chocolaterie et en pâtisserie.
- Les lichens peuvent être consommés et digérés par des organismes très différents : dans la nature, ils sont souvent broutés par des Invertébrés, comme les Limaces, ou par des Rongeurs ; en herbier, ils sont attaqués par certains insectes comme les Psoques.
- Certains lichens sont toxiques utilisés comme poison contre les loups.

III-3-Lichens et l'industrie

III-3- 1- Matière colorantes : se sont des substances du groupe des dépsides, colorables en rouge par des hypochlorites, susceptibles de donner après diverses transformations des couleurs pourpre ou bleu, désignées sous le nom d' « orseille », ou des

pigments jaunes ou bruns. Ces substances ont été extraites à partir de certaines espèces lichéniques de *Parmelia*, et surtout des *Roccella*,...) (OZENDA et CLAUZADE, 1970).

III-3-2- Les mucilages : différents lichens peuvent donner par extraction à l'eau chaude et éventuellement hydrolyse partielle, des substances mucilagineuses qui ont été utilisées comme succédanées de gomme arabique notamment pour l'encollage des tissus (OZENDA ,2000).

III-3-3- les parfums : c'est la seule utilisation industrielle des lichens qui conserve aujourd'hui une importance notable, surtout à partir de deux lichens fruticuleux corticols: *Evernia prunasri* (la mousse du chêne) et *Pseudevernia furfuracia* (la mousse des arbres) (BOURNERIAS et BOCK, 1992).

III-3-4- Glucose et alcool : l'hydrolyse industrielle de la lichenine a donné la possibilité d'obtenir ces deux corps, mais la difficulté de récolter les lichens nécessaires en grande quantités a déterminé un déclin rapide de cette industrie.

III-3-5- Décoration : les lichens sont également utilisés dans la décoration des tables et la confection de maquettes où ils représentent des arbres.

I-Matériels

1-1-Matériel végétal

Les espèces lichéniques *Evernia prunastri*, *Parmelia acetabulum* et *Ramalina fraxinea* ont été récoltées au mois de mai 2016 à TIKJDA (DERNA), zone non polluée, située au cœur du Djurdjura, à 55 km au sud-est du chef lieu de la wilaya de Tizi-Ouzou. C'est une zone dépassant les 1000 m d'altitude, présentant un couvert végétal important dont l'espèce phanérogamique la plus dominante est le chêne vert et le chêne liège.

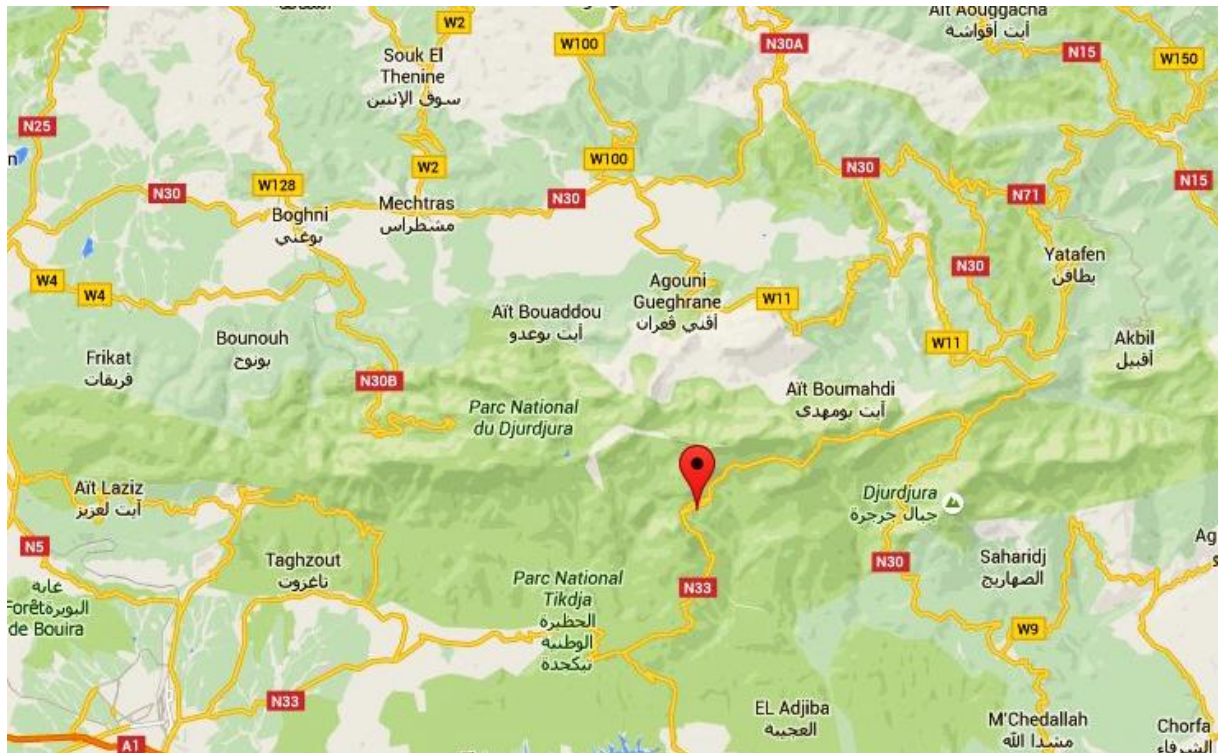


Figure 10: Localisation du site de prélèvement (TIKDJA)

Parmelia pastillifera à été récoltée au mois de mai 2016 à YAKOUREN.



Figure11 : Localisation du site de prélèvement (YAKOUREN)

Cladonia rangiformis à été récolté au mois de mai 2016 à TAKSEBT

Le barrage TAKSEBT se situe entre Aït Iraten et Ait Aïssi dans la wilaya de Tizi-Ouzou dont l'altitude est de 171.5 m

- Non isidié et généralement sorédié, présente rarement des apothécies marginales et brièvement pédicellées à teinte brune.
- Les spores sont simples et incolore
- Présente une réaction négative avec "C" et "KC" et donne une coloration jaune vif avec "k".
 - Il s'agit d'*Evernia prunastri*

❖ Approche d'identification de l'espèce 2 (E2)

- Thalle foliacé, non ombiliqué, en rosette plus ou moins étroitement appliqué sur le substrat. Présente une différence très nette entre face supérieure (gris claire) et face inférieure (noire), à structure stratifiée et à lobes périphérique dépassants 2 mm de longueur.
- La face supérieure est recouverte d'isidies noires simple ou ramifiées, en forme de granulations aplaties ou discoïdes (en pastille), présente des apothécies, non rhizoïdes noirs en dessous.
- Spore ellipsoïdales ou globuleuses
- La médulle présente une coloration négative avec "k" et une couleur rouge avec "C" et "KC".
 - Il s'agit de *Parmelia pastillifera*.

❖ Approche d'identification de l'espèce (E3)

- Thalle primaire crustacé très fugace et le plus souvent inexistant.
- Thalle secondaire en petit buisson pouvant atteindre 10 cm de hauteur.
- Formant de grands "coussins" avec ses voisins, formés de rameaux, parfois perforés aux aisselles.
- Se divisant de manière très trichotome (parfois dichotome pour la dernière division), avec des rameaux terminaux courts et dirigés dans toutes les directions.
- Surface lisse, gris-verdâtre pâle, crème, blanchâtre toujours très pâle si humide et à l'ombre, plus jaunâtre dans les zones sèches et ensoleillées.
 - Il s'agit de *Cladonia rangiferina*.

❖ Approche d'identification de l'espèce (E4)

- Thalle foliacé corticole à larges lobes, vert sombre.
- Non isidié, ni sorédié apothécies fréquentes

- Thalle jusqu'à 15 cm de diamètre, se développant en rosette régulière ou non, plus au moins lâchement.
- Face supérieure vert sombre, gris verte, vert olive, gris brunâtre.
- La médulle présente une coloration positive avec "k" et une réaction négative avec "C".

➤ Il s'agit de *Parmelia acetabulum*.

❖ Approche d'identification de l'espèce (E5)

- Thalle fruticuleux en forme de lanières, gris à vert jaunâtre, ni sorédié, ni isidié, souvent avec des apothécies
- Thalle jusqu'à 20 cm, généralement plus court surtout dans les zones polluées, peu ramifié (parfois 1 à 2 lobes seulement).
- Face supérieure et inférieure de structure et de couleur identiques.
- Lobes très larges, jusqu'à 2.5 cm (surtout dans des régions de bonne qualité de l'aire mais aussi assez étroits).
- Présence de pseudocyphelles rondes, claires, peut visibles.
- Le thalle présente une réaction négative avec "k", "C", "KC" et "P".

➤ Il s'agit de *Ramalina fraxinea*.

II-2- Extraction des substances lichéniques

- 100 mg de lichen ont été broyés et mis dans un tube à essai en présence d'un 1 ml d'acétone.
- Le mélange est macéré pendant 3h, il s'agit de l'extrait lichénique.



Figure13 :l'obtention d'un extrait lichénique

II-3- Isolement du composé majoritaire

- L'extraction a été réalisée à l'aide de 300 mg d'échantillon lichénique que nous avons broyé. la poudre obtenue a été introduite dans un tube à essai à laquelle nous rajouté 10 ml d'acétone.
- La macération a duré 3h.
- Révélation des plaques chromatographiques avec de l'acide sulfurique a 10%.
- Le deuxième réactif est du tréchloroferique alcoolique qui permet de mettre en évidence les depsides et depsidones.



Figure 14 : l'obtention d'un composé majoritaire de lichen après évaporation.

- Les mêmes composées possèdent même Rf ($R_f = L_1/L_2$)

II-4-La microcristallisation

a- Des réactifs cristallogènes

Nous avons utilisé les mélanges mis en point par (HUNECK et YOSHIMURA ,1996) et (ORANGE et *al*, 2010)

b- Méthodologie

- la méthode consiste à déposer une goutte de l'extrait sur une lame et d'y rajouter un réactif cristallogène.
- L'observation des cristaux est réalisé au grossissement x100 et x600 en lumière naturelle puis en lumière polarisée.

III- Interprétation

III -1-Détermination des rapports frontaux de quelques espèces

Le rapport frontal est la distance parcourue par la substance sur la distance parcourue par le solvant

$$Rf = \frac{L1}{L2}$$

Tableau1 : résultats de la C.C.M des substances lichéniques pulvérisé par l'acide sulfurique

- Dans ce cas nous avons prolongée la plaque C.C.M dans le solvant de migration qui contient (130 ml d'Hexane, 80 ml d'Ethyle éther, 20 ml d'Acide formique).

Espèce	<i>Cladonia rangiformis</i>	<i>Ramalina fraxinea</i>	<i>Evernia prunastri</i>			<i>Parmelia acetabulum</i>	<i>Parmelia pastillifera</i>
Rf EL	0.8036	/	0.6785	0.7380	0.8214	0.1905	0.8452
Rf CM	/	/	/			0.1131	0.1190

D'après le tableau1, l'analyse des extraits lichéniques par C.C.M permet de mettre en évidence l'extrait d'*Evernia prunastri* avec trois Rf, Rf = 0.6785, Rf = 0.7380 et Rf = 0.8214

Chez *Cladonia rangiformis* Rf = 0.8036 et *Parmelia pastillifera* Rf = 0.8452, d'après ces valeurs nous déduisons que ces deux espèces il n'y a pas eu de migration.

Dans le cas de *Ramalina fraxinea* nous n'avons pas obtenu de Rf.

L'acide sulfurique permet de mettre en évidence les stéroïdes, les terpènes et saponines.

Tableau 2 : résultats de la chromatographie sur couche mince des substances lichéniques pulvérisé par la solution de trichloroferique

- Dans ce cas nous avons prolongée la plaque C.C.M dans le solvant de migration qui contient (130 ml d'Hexane, 80 ml d'Ethyle éther, 20 ml d'Acide formique).

Espèce	<i>Cladonia rangiformis</i>	<i>Ramalina fraxinea</i>	<i>Evernia prunastri</i>			<i>Parmelia acetabulum</i>	<i>Parmelia pastillifera</i>	
Rf EL	/	/	0.4235	0.4765	0.5235	0.1353	/	
Rf CM	/	/	0.4823			0.1294	0.2353	/

D'après le tableau 2 et la figure, l'analyse des extraits lichéniques par C.C.M dont les $Rf = 0.4235$, $Rf = 0.4765$ et $Rf = 0.5235$ ce dernier permet l'obtention des taches pourpre ou brun rouge obtenue après révélation par la solution alcoolique trichlorofirique ($FeCl_3$), car ce révélateur permet de mettre en évidence des composés tels que les depsides et les depsidones qui sont des polyphénols.

Nous avons observé également un spot brun rouge chez *Parmelia acetabulum* dont $Rf = 0.1353$ cela signifie probablement à l'acide usnique.

Enfin chez *Cladonia rangiformis*, *Ramalina* et *Parmelia pastillifera* nous avons remarqué l'absence de spot, cela signifie probablement l'absence des depsides et depsidones.

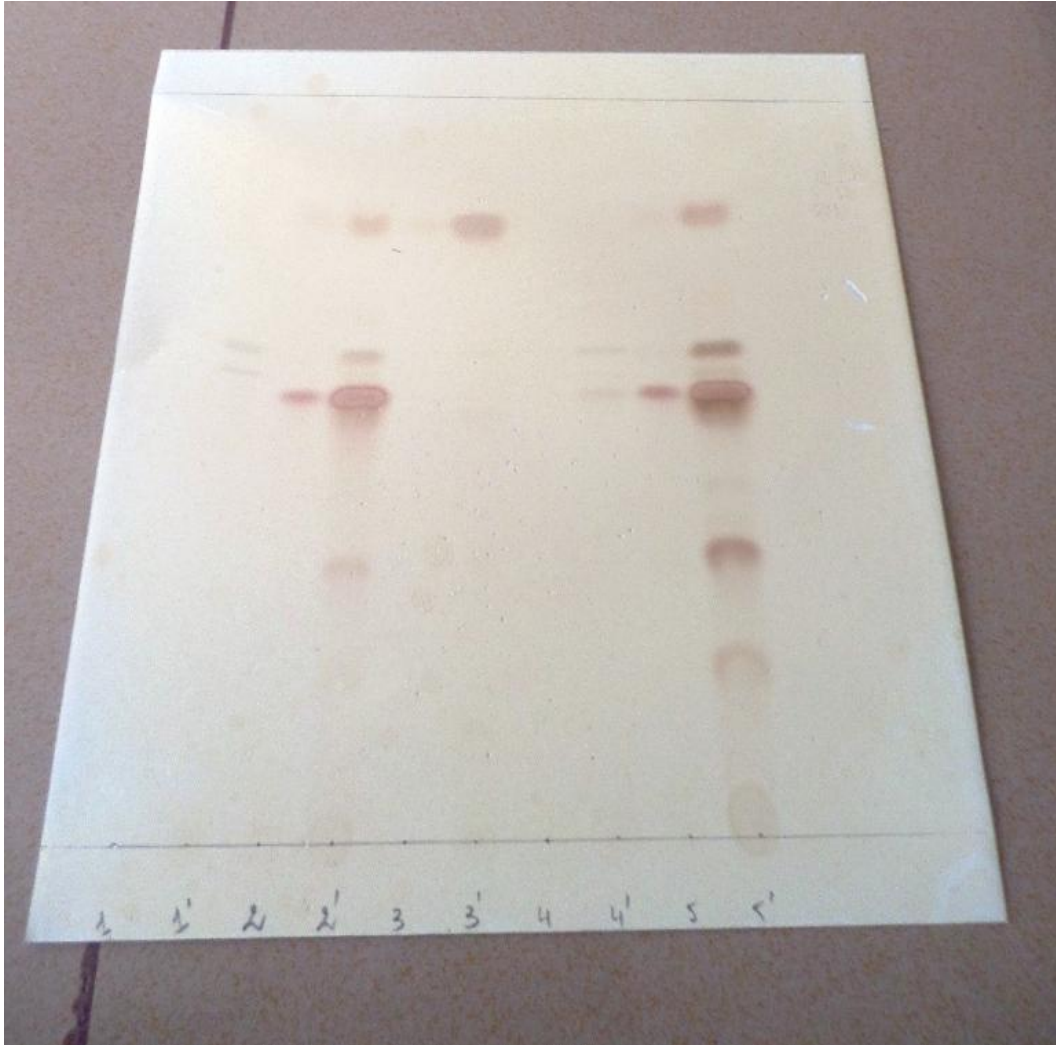


Figure 15 : résultats des plaques pulvérisées par la solution alcoolique (FeCl_3) trichloroférique.

Tableau 3 : résultats de migration des substances pulvérisé par la solution alcoolique (C.C.M 3).

Dans ce cas nous avons prolongée la plaque C.C.M dans le solvant de migration qui contiendra (200 ml de Toluène et 30 ml de l'acide acétique).

Espèce	<i>Cladonia rangiformis</i>	<i>Ramalina raxinea</i>	<i>Evernia prunastri</i>			<i>Parmilia acetabulum</i>			<i>Parmilia pastillifera</i>
Rf a	0.7824	/	0.3235	0.5294	0.7824	0.0529	0.3352	0.5000	0.7824
Rf à	0.7235	0.7824	/	0.5294		0.3470			0.2118

D'après le tableau 3 l'analyse des extraits lichéniques par C.C.M permet de mettre en évidence un profil plus complexe pour l'extrait d'*Evernia* avec trois spots dont les Rf = 0.3235, Rf = 0.45294 et Rf = 0.7824 ,aussi chez *Parmilia acetabulum* dont les Rf= 0.0529 , Rf = 0.3352 et Rf = 0.7824 de plus la coloration tache pourpre ou brun rouge obtenue après révélation par FeCl₃ laisse supposer la présence de composés de type depsides et depsidones, en plus nous avons remarqué des spots verts qui correspond probablement à des composés chlorophylliens.

Chez *Cladonia rangiformis* , *Evernia prunastri* et *Parmelia pastillifera* le Rf = 0.7824 cela signifie la présence d'une même substance lichénique.

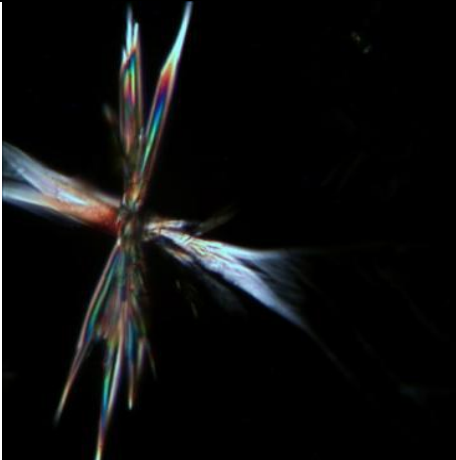



D'après les Rf et les spots nous pouvons déduis que ces Cinq espèces lichéniques sont riches en composés lichéniques en fonction de l'altitude et de climat.

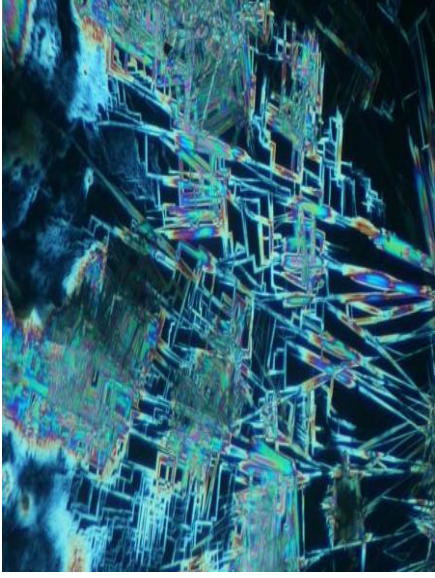
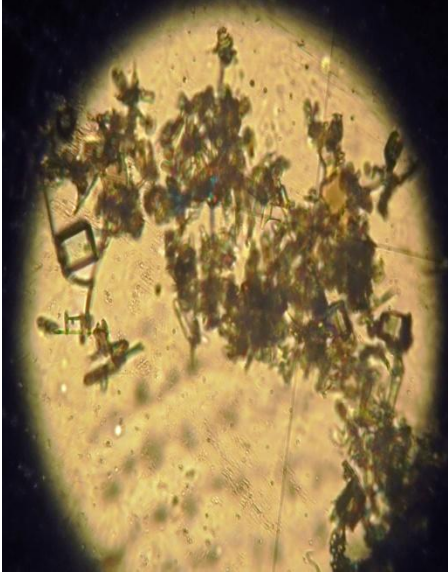
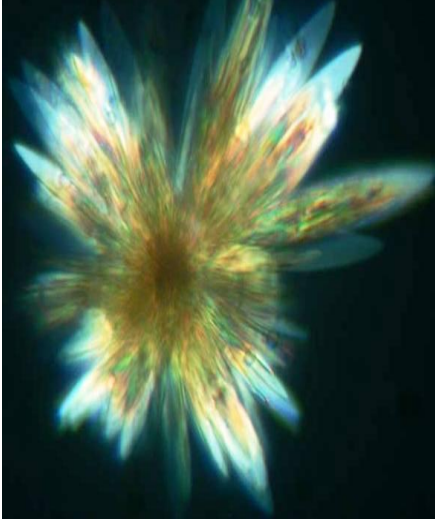

III-2- Identification des composés lichéniques par la microcristallisation


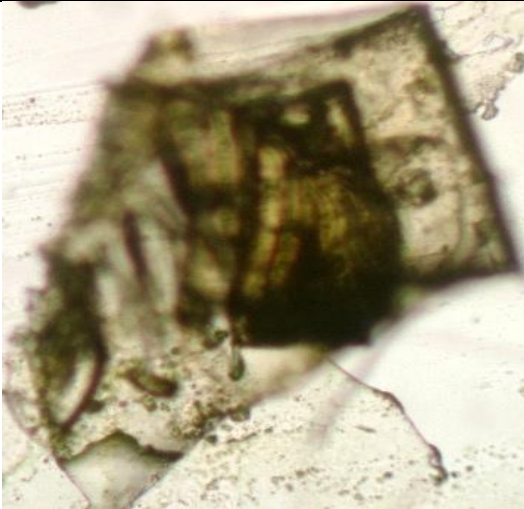
Pour appuyer la C.C.M nous avons utilisé la microcristallisation qui est une autre méthode d'identification des composés lichéniques. Cette technique consiste à faire cristalliser les substances lichéniques à l'aide de réactifs qualifiés de réactif cristallogène. Des cristaux de ces substances lichéniques se forme et sont observés au microscope équipé d'un système de polarisation cette ancien technique est rapide à mettre en place ne nécessitant qu'un matériel simple, permet la détermination des espèces lichéniques ne contenant qu'un nombre très limité de substances lichéniques.

Pour notre expérimentation, nous n'avons utilisé que quelques réactifs cristallogènes disponibles : GAW, GAAn, KK, GE

Les cristaux obtenus après l'observation

Substances lichéniques	Photo de M.Boulangier (2012)	Photo (labo, 2016)
<p>L'acide usnique : GE et GAW : cristaux en forme d'étoiles ou de croix. (evernia)</p>		
<p>L'acide usnique : GAAn : cristaux en forme de prisme</p>		
	<p>Photo(Lagabrielle,2012)</p>	<p>Photo (labo, 2016)</p>

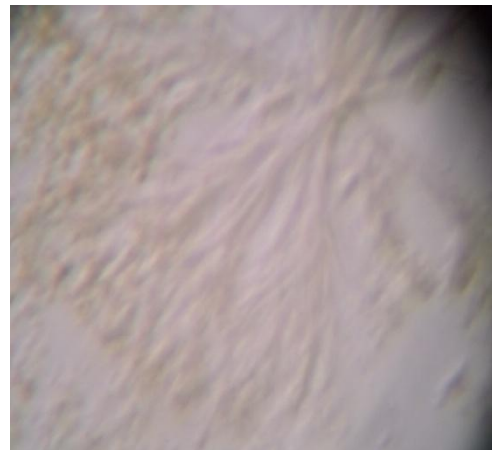
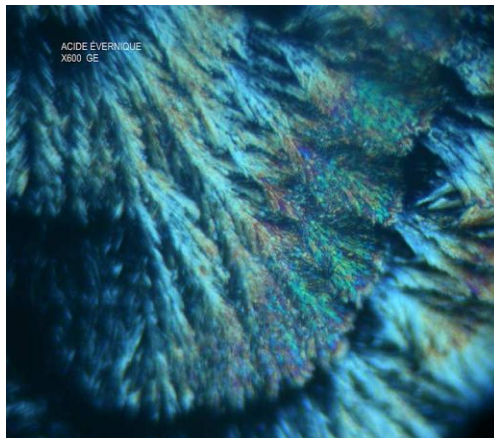
<p>Acide divaricatique</p> <p>Réactifs GAW ou GE, entrecroisement de cristaux en angles droits, spectaculaires en lumière polarisée. Les cristaux apparaissent le plus souvent groupés sur les bords extérieurs du dépôt.</p> <p>Extraction de <i>parmelia acetabulum</i></p>		
<p>Acide salazinique</p> <p>Formation d'aiguilles rouges courbes d'épaisseur inférieure à 1 micron, groupées en gerbes ou en sphères plus ou moins régulières dans KK, très caractéristiques à grossissement x1000 (la préparation ne se conserve pas).</p> <p>Dans GAoT se développent des cristaux fusiformes en formes de bateaux de 100 à 150 microns, souvent regroupés en étoiles irrégulières (bonne conservation de la préparation).</p> <p>Extraction de <i>Parmelia</i> Dans le milieu GAAn</p>		

	(Lagabrielle, 2012)	Photo (labo 2016)
<p>Acide norstictique</p> <p>Dans GAAn se développent des cristaux fusiformes en formes de bateaux de 100 à 150 microns, souvent regroupés en étoiles irrégulières (bonne conservation de la préparation). Extraction de <i>Ramalina</i></p>		
	Photo(Lagabrielle,2012)	Photo (labo 2016)

Acide évernique

Réactif GE, formation en éventail d'aiguilles serrées (GALUN, 1970), parfois ces éventails sont groupés en étoiles (TAYLOR, 1968). Très bonne conservation après plus de six mois.

Extraction de *Ramalina*



Cette étude nous a permis de nous initier à deux méthodes d'identification des substances lichéniques : la chromatographie sur couche mince et la microcristallisation.

En effet, ces deux techniques nous ont permis de mettre en évidence la présence de ces composés inégalement répartis au sein des cinq espèces lichéniques *Ramalina fraxinea*, *Evernia prunastri* qui sont des espèces fruticuleuses corticol, *Parmelia acetabulum* et *Parmelia pastillifera* deux espèces foliacées corticoles et une espèce terricole *Cladonia rangiferinis*.

D'après la chromatographie sur couche mince, nous avons noté surtout la présence des depsides et depsidones chez toutes les espèces révélées grâce au trichloroferrique, mais avec plus de spots chez *Evernia prunastri* et *Parmelia acetabulum*.

La microcristallisation nous a permis d'identifier l'acide norcistic chez *Parmelia acetabulum* l'acide usnique et évernique chez *Evernia prunastri*.

En perspective de recherche, il serait intéressant d'élargir ce travail sur d'autres espèces en vue d'une étude chimiotaxonomique.

Référence bibliographique

- BELKALEM L et BERKAT F. (2012).** Contribution à l'étude bibliographique des substances lichéniques. Tizi Ouzou, Alger, p .61.
- CLAUDE ROLAND J et VIAN B. (1996).** Atlas de biologie végétale. Organisation des plantes sans fleurs. 4^{ème} édition. Masson. Paris, p. 46.
- DERUELLE S et LALLEMANT. (1983).** Les lichens témoins de la pollution. Edition. Thèse Vuibert, Université de biologie. Paris, p.26.
- DUHOUX E et NICOLE M. (2004).** Biologie végétale. Associations et interactions chez les plantes. Edition. Paris, p. 28
- GENEVVES L. (1990).** Biologie végétal. Thallophytes et microorganisation. Edition. Dunod .Paris, p.94.
- GENEVVES L. (1992).** Reproduction et développement des végétaux. Edition. Dunod. Paris, p. 16.
- GORENFLOT R et GUERN M. (1989).** Organisation et biologie des Thallophytes. Doin éditeur- Paris, p.160-164.
- GUIGNARD J L. (1983).** Abrégé de botanique. Edition. Masson. Paris, p.16
- KIRSCHBAUM et WIRTH. (1997).** Les lichens bio-indicateurs : les reconnaître évaluer la qualité de l'air. 2^{ème} édition Eugen Ulmer, p. 8.
- KITIR H et HOCINE H. (2004).** Contribution à l'étude de l'impacte de la pollution plombique d'origine automobile sur l'activité antibiotique de *Evernia prunastri* et *Parmelia pastillifera* dans l'agglomération de Tizi Ouzou, Alger, p. 92.
- LAGABRIELLE J. (2014).** La microcristallisation des substances lichéniques un outil performant pour le lichénologue. Bull .Ass. fr.Lichénologie, vol.39, p.177-183.
- OUBABAS N. (2005).** Etude bibliographique de l'activité antibiotique des lichens. Université Mouloud Mammeri T.O, p.9.
- OZENDA et CLAUZADE. (1970).** Les lichens étude biologique et flore illustrée. Edition : Masson, P. 8-39, 109,121.
- OZENDA P. (2000).** Les végétaux. Organisation et diversité biologique. 2^{ème} édition. Dunod. Paris , p .189-190.
- ROBERT D et CATESSON A M. (2000).** Organisation végétative. Caractéristiques et stratégie évolutive des plantes. Nouvelle édition. France. vol. 2, p.146.

SAHMOUN F.(2001). Détection de la pollution plombique d'origine automobile à l'aide de transplantation lichénique dans l'agglomération de TIZI- OUZOU. Thèse de magistère. Université de TIZI- OUZOU, p .83.

SELOSSE M A. (2009). La symbiose. Structures et fonctions, rôle écologique et évolutif. Magnard –Vuibert. Paris, p .7-11

SHOUCHON C. (1971).les lichens.1^{er} édition. Presses Universitaires de France, p. 92-102,119

TIEVANT P. (2001). Guide des lichens. 350 espèces de lichens d'Europe. Paris, p .12-26.

VAN-HALUWYN C et LEROND M. (1993).Guide des lichens.Edition.Lechevalier.paris, p .334.

VINAYAKA K.S., PRAVEEN KUMAR S.V., PRASHITH KEKUDA T.R., KRISHNAMURTHY Y.L., MALIKARJUN N et SWATHI D. (2009). Proximate composition, antioxidant, anthelmintic and insecticidal activity of a macrolichen *Ramalina conduplicans* vain. (Ramalinaceae). European journal of applied sciences, vol .1, n°3, p. 40-46.