

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministere De L'enseignement Supérieur et de la Recherche

Scientifique



Université de Mouloud MAMMERY de Tizi-Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomique

Département de Biochimie et microbiologie

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'Obtention du diplôme de master en biologie

Spécialité : Biotechnologie et Valorisation

Des Plantes

Extraction de molécules lichéniques à partir de deux espèces de lichens « Cladonia portentosa et Hypogymnia farinaceae » et Identification des molécules par deux méthodes : Etude par chromatographie couche mince et par microcristallisation

Thème

Travail réalisé par :

Mlle Chekroun Hanifa et Mlle Ferrat Lysa

Membre de jury :

Présidente : Mme Zareb. A

Maitre de conférences B UMMTO

Promotrice : M^{me} SAHMOUNE.F

Maitre assistante classe A UMMTO

Examineur : M^{me} AKLI.A

Maitre assistante classe B UMMTO

Promotion : 2022/2023

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie, le symbole de
tendresse,*

*Qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à ma mère A
mon cher père, écolé de mon enfance, qui a été mon ombre durant
toutes les années d'études, et qui a veillé tout au long de ma vie à
M'encourager, à me donner l'aide et à me protéger. Que dieu les
gardes et les protège. A mes adorables soeurs que j'aime beaucoup*

Remerciements

Au terme de ce modeste travail, nous tenons à remercier Dieu de nous avoir mis sur la voie des études et de nous avoir donné la volonté et le courage de mener à terme

ce travail. Nous adressons nos sincères remerciements à notre promotrice Mme SEHMOUNE.F pour ses conseils et sa disponibilité lors de l'élaboration de ce mémoire de fin d'études. Nos remerciements les plus sincères s'adressent aux membres du jury ; à Mr LIMANE.A d'avoir accepté de présider ce jury, à Mme AKLI.A et Mme ZAREB de nous avoir fait l'honneur d'examiner ce travail et de l'enrichir par leurs critiques constructives.

Nous remercions chaque personne ayant contribué à la réalisation de notre travail, Sans oublier nous enseignants qui nous ont suivis tout au long de notre parcours, aux Quels revient le mérite de notre réussite.

Enfin nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Table des matières

Chapitre I

Approche morphologique des lichens

I.1 Définition des lichens	3
I.1.1 Appareil végétatif	6
I.1.5 Morphologie du thalle	7
I.1.5.1 Thalle crustacé	9
I.1.5.2 Thalle foliacé	9
I.1.5.3 Thalle fruticuleux ou buissonnant	9
I.1.5.4 Thalle squamuleux	9
I.1.5.5 Thalle gélatineux	10
I.1.5.6 Thalles complexes ou composites	10
I.1.6 La structure de thalle lichenique	10
I.1.7 La reproduction des lichens	14
I.1.2.1 Croissance et nutrition des lichens :	16
I.1.10 La construction biochimique des lichens :	17
I.1.13 Usage des lichens :	20
I.1.13.1 Usages alimentaires :	20
I.1.13.2 Usages médicaux :	20
I.1.13.3 Usages industriels :	21
I.1.14 Ecologie des lichens :	23

Chapitre II

Présentation des lichens étudiés :

II.1.1	Présentation de l'espèce <i>Cladonia portentosa</i> :	28
II.1.2	Présentation de l'espèce <i>Hypogymnia farinaceae</i> :	31
	II.2 Distribution de l'acide physodique :	32
II.2.1	Chimie et biosynthèse de l'acide physodique :	32
II.2.1.1	Chimie.....	32
II.2.1.2	Voie de biosynthèse des depsidones (acide physodique)	33
II.2.1.3	Localisation de l'acide physodique chez les lichens (<i>Hypogymnia Farinaceae</i>)	35
II.2.1.4	Concentration de l'acide physodique dans le thalle lichénique	35
II.2.1.5	Effet écologique de l'acide physodique	36
II.2.1.6	Rôles biologiques de l'acide physodique dans le lichen	36
II.2.1.7	Distribution de l'acide perlatolique (<i>Cladonia portentosa</i>)	36
II.2.2	Chimie et biosynthèse de l'acide perlatolique :	37
II.2.2.1	Chimie.....	37
II.2.2.2	La voie de biosynthèse des depsides (acide perlatolique)	38
II.2.2.3	Localisation de l'acide perlatolique chez les lichens	38
II.2.2.4	Concentration de l'acide perlatolique	38
II.2.2.5	Effets écologiques de l'acide perlatolique	39
II.2.3	Effets des composés secondaires des lichens :	40

Chapitre III

III. Matériels et méthodes :

III.1	Matériel végétale :	41
III.1.1	Identification des échantillons lichéniques	41
III.1.1.1	Approche de l'identification de <i>Cladonia portentosa</i>	41
III.1.1.2	Approche de l'identification de <i>Hypogymnia farinaceae</i>	43
III.1.1.3	Extraction des substances lichéniques.....	43
III.2.1	Chromatographie	45
III.2.2	Microcristallisation	49

IV.1. Résultats de la chromatographie	51
IV.2. Résultats microcristallisation	52
Conclusion	57

Liste des figures

Figure 1 : les différents types de thalles lichéniques

Figure 2 : structure de quelques naphthoquinones et photographies des lichens dont elles sont issues

Figure 3 : *Cladonia Rangiferina*

Figure 4 : structure homéomère : coupe transversale du thalle (Ozenda et Clauzade, 1970).

Figure 5 : structure hétéromère stratifiée : coupe transversale du thalle (Boullard, 1990)

Figure 6 : Structure hétéromère radiée : coupe transversale du thalle (Boullard, 1990)

Figure 7 : anatomie et structure de lichens (Hale, 1974).

Figure 8 : Exemple de produits contenant des extraits de lichens (de gauche à droite) : parfum masculin d'hermès, déodorant d'Earth Science, gel-raffermissant de Polaar et lotion hydratante pour les mains de Vertumne à Vénus.

Figure 9 : *Cladonia portentosa* en forme de coussinets.

Figure 10 : *Cladonia portentosa* thalle complet.

Figure 11 : photo de *Cladonia portentosa* dans son milieu naturel.

Figure 12 : podétions de *Cladonia portentosa* prit par une loupe binoculaire.

Figure 13 : photo de l'espèce *Hypogymnia farinaceae* dans son milieu naturel.

Figure 14: biogenèse des substances lichéniques

Figure 16 : la structure chimique l'acide perlatolique (depside)

Figure 17: *Cladonia portentosa* à thalle composite (Mizrana, 2023)

Figure 18: *Cladonia portentosa*, Mizrana, 2023.

Figure 19 : thalle *Hypogymnia farinaceae*. A : thalle saxicole frais, et B : thalle saxicole sec

Figure 20 : Schéma des extractions successives sur *Cladonia portentosa* et *Hypogymnia farinaceae*.

Figure 21 : profil chromatographique plaque de chromatographie déjà préparée pour la mise en cuve.

Figure 23 : profil chromatographique avec comme phase mobile (130ml d'Hexane, 20ml d'A. Formique, 80ml de Diethylether) et révélée avec H₂SO₄ à 10%.

Figure 24 : Profil chromatographique de *cladonia portentosa* et *hypogymnia farinaceae* avec comme phase mobile (130ml d'hexane, 20ml d'A. Formique, 80ml de diethylether) et révélée avec H₂SO₄ à 10%.

Figure 25 : cristaux d'acide perlatolique (dans GAW) vue par microscope optique sans lumière polarisée au grossissement x 100.

Figure 26 : acide perlatolique (dans GAW) vue au microscope optique au grossissement x100.

Figure 27 : acide perlatolique (dans GE) vue sous le microscope optique à lumière polarisée au grossissement x100, (extrait de *Cladonia portentosa*)

Figure 28 : lame contenant l'échantillon d'*Hypogymnia farinaceae* (acide physodique)

Figure 29 : image de la microcristallisation de l'acide physodique traité par GAW appartenant à l'espèce *Hypogymnia farinaceae* sous microscope optique polarisé et analysé au grossissement □ 100

Figure 30 : image de microcristallisation de l'acide physodique extrait depuis l'espèce *Hypogymnia farinaceae* par GE vue sous microscope optique polarisé et analysé, au grossissement x 100.

Schéma 1 : biogenèse des depsides et depsidones à partir l'acide orsellinique

Schéma 2 : principe de la CCM_ calcul du Rf. Cet extrait contient deux composés

Liste de tableaux

Tableau 1 : valeurs des Rfs de l'espèce *Cladonia portentosa* et de *Hypogymnia farinacea*.

Introduction

Les lichens sont des organismes symbiotiques formés par l'association d'un champignon hétérotrophe appelé mycosymbionte et d'un ensemble de cellules microscopiques possédant de la chlorophylle (algue verte ou cyanobactéries autotrophe) nommé phycosymbionte, cette symbiose comme son nom l'indique est bénéfique pour les deux partenaires entraînant des modifications morphologiques et physiologiques, elle est durable, est productible (VAN HALUWYN ET LEROND, 1993).

Le mycosymbionte fournit une structure protectrice et assure la reproduction sexuée par la production de spores. En plus, il apporte les éléments minéraux aux lichens, tandis que, le photosymbionte produit des nutriments organiques résultants de la photosynthèse. Les lichens sont présents dans de nombreux habitats terrestres et sont capables de résister à des conditions environnementales extrêmes, tels que des températures très basses ou des niveaux d'humidité très faibles, car ils sont très sensibles aux changements environnementaux et peuvent refléter les niveaux de pollution. Les lichens ont également des utilisations médicales et sont utilisés dans la production de colorants naturels. (VAN HALUWYN ET LERON, 1993)

Notre travail fait l'objet de l'extraction de molécules à partir de deux espèces de lichens « *Cladonia portentosa* et *Hypogymnia farinaceae* » et l'identification de ses molécules par deux méthodes : CCM et Microcristallisation.

Le travail est devisé sur trois chapitres :

Tout d'abord, le premier chapitre, débute par une présentation générale du lichen ; ses deux partenaires et leurs contributions dans la relation symbiotique ainsi que leurs rapports cytologiques et physiologiques.

Puis, nous avons citez les différentes morphologies de thalles sous lesquelles le lichen peut apparaitre dans la nature, sa structure, ses modes de reproductions, sa croissance et sa nutrition.

Enfin, pour terminer ce chapitre nous avons présenté la biochimie des lichens d'une Façon générale, leurs différents usages et sur son écologie.

Ensuite, dans le deuxième chapitre nous avons traité la biochimie des deux espèces lichénique étudiées, à partir des connaissances bibliographiques qui ont été prouvées déjà au paravent ; cette partie se concentre sur les composés communs entre les deux espèces, puis les composés majoritaires des deux espèces étudiées, leurs natures biochimiques et leurs usages.

Enfin, dans le dernier chapitre, c'est la partie expérimentale que nous avons menée pour l'identification des composants majoritaires des deux espèces lichéniques étudiées par la méthode de chromatographie par couche mince et puis, par microcristallisation, puis vient la partie de discussion et d'interprétation des résultats puis, en termine par une conclusion récapitulative.

L'identification des substances lichéniques selon la morphologie des cristaux qu'ils forment est l'une des premières méthodes pour identifier les molécules élaborées par le lichen. Cette approche développée par **Asahina**, [1930-1940] repose sur la cristallisation d'extraits lichéniques dans des solvants particuliers, largement utilisée jusqu'à la fin des années soixante. Cette technique a été remplacée par une nouvelle technique permanente ce de la chromatographie sur couche mince.

Le couplage de ces deux méthodes nous ont permis d'identifier des molécules à partir de ces deux espèces lichéniques lune terricole *Cladonia portentosa* et l'autre corticole *Hypogymnia farinaceae*.

Chapitre I

Approche morphologique des
lichens

I.1 Définition des lichens :

Le terme actuel lichen est une nomination d'origine grecque, lichen : « liken », il désigne des plantes qui croient sur les arbres aux sont attribuées des vertus médicinales.

Les lichens sont des organismes végétaux, cryptogames, non vasculaire, résultant d'une alliance constitués d'une association stable entre un champignon et une algue uni ou pluricellulaire (gonidie)ou une cyanobactérie. Cette association mutuellement bénéfique est appelée symbiose, où le champignon fournit une structure protectrice et absorbe les minéraux et l'eau nécessaires à la survie, tandis que l'algue ou la cyanobactérie fournit les nutriments nécessaires à la photosynthèse. Ils constituent avec les algues et les champignons l'embranchement des thallophytes (**DEYSSON et DELCOVRT, 1998**).

La symbiose lichénique est une relation symbiotique mutualiste durable entre un champignon (appelé mycobionte) et une algue ou une cyanobactérie (appelée photobionte). Dans cette relation, le champignon fournit une structure protectrice pour l'algue ou la cyanobactérie, tandis que celle-ci fournit les sucres et les composés organiques résultant de la photosynthèse nécessaires à la survie du champignon (**VAN HALUWYN et LEROND, 1993**).

IRISSON (2012), décrit la symbiose lichénique comme étant un parasitisme, dont le champignon est le parasite de l'algue, car il pénètre ces suçoirs directement dans les cellules algales (**JACQUELINET, 2008**).

Et **MOREAU, (1937)**, dit que c'est l'algue qui vit en parasite aux dépend du champignon. Il s'agit alors de symbiose antagoniste au profit de l'algue. Mais d'autres admettaient plutôt que c'est une symbiose mutualiste (bénéfices réciproques) (**MOREAU, 2000**). Ils ont mis en évidence que le lichen qui vit dans des conditions très ingrates dont ces partenaires ne pourraient pas s'accommoder une fois isolés (**OZENDA, 2000**).

Les résultats des travaux modernes, ont mis aux points aux contradictions des recherches classiques, puisque lorsque les scientifiques cultivent le champignon isolé, obtiennent une masse informe qui ressemble pas au lichen dont il provient. L'algue se manifeste dans certains cas une vie autonome dans la nature (**ANONYME 01, 2012**). Cependant, ces cultures suffisent à la démonstration du dualisme lichénique, du fait que les

organismes cultivés sont parfaitement identifiables comme Ascomycètes, Cyanobactéries et chlorophycées, à des types libres de ces groupes (OZENDA, 2000).

- **Algues constituantes des lichens :**

La majorité sont des Chlorophytes, avec 22 genres (environ 90 % des lichens) ; et dans une moindre mesure des Cyanobactéries avec 13 genres (environ 10 % des lichens) (VAN et HALUWYN et LEROND, 1993).

- **Champignons constituants des lichens :**

Au total il existe 64 000 espèces de champignons dont : 20 % sont lichénisés, 46 % sont des Ascomycètes, 1,2 % sont des Deutéromycètes et 0,3 % c'est des Basidiomycètes (COSTE, 2008).

- **Importance de la symbiose lichéniques :**

- reviviscence est un passage souple et réversible du lichen de l'état sec à l'état hydraté ;
- Résistance aux températures extrêmes ;
- Métabolisme très spécifique des lichens ;
- Capacité d'installation pionnière sur des substrats difficiles.

- **Rapports cytologiques**

Chez les lichens à chlorophycées, chaque gonidie est entourée par des rameaux d'hyphe à articles courts s'appliquant sur elle, appelés suçoirs ou haustoriums (VAN et HALUWYN et LEROND, 1993).

Par contre chez les lichens à cyanobactéries deux possibilités de rapports : sont par simple juxtaposition comme dans le cas précédent après traversée de la gaine mucilagineuse, soit par pénétration d'un suçoir de l'hyphe dans la cellule gonidiale. La microscopie électronique a apporté de nouvelles précisions : presque tous les lichens qui ont été examinés ont montré à quelque degré une pénétration de suçoirs fongique dans l'algue. Chez les crustacés, et même quelques formes plus hautement structurées, les pénétrations sont celles des autres hyphes des lichens. La membrane cellulosique de l'algue est perforée complètement et

le suçoir se trouve encastré dans cette membrane comme dans un collier. La membrane plasmique en revanche, s'invagine et forme une poche autour du suçoir (OZENDA, 2000).

➤ **Rapports physiologiques :**

Le rapport physiologique entre le mycosymbiote et le Photosymbiote est étroitement lié à leurs fonctions respectives (RAVEN et AL, 2003).

En classe les substances fournies par le photosymbiote dans les produit de photosynthèse et celles issues de son métabolisme, et qui représentent les substances carbonées (BOUCHET, 1979). Ces hydrates de carbone sont ensuite transformés par le mycosymbiote en mannitol (et arabitol), ces sucres limitent la dessiccation du thalle, en raison de leur structure chimique (groupement -OH) et de la pression osmotique élevée qu'ils exercent dans les cellules (VAN et HALUWYN et LEROND, 1993).

Dans le cas Cyanobactéries sont aptes à fixer l'azote atmosphérique, théorie confirmée par les expériences utilisant de l'azote marqué ^{15}N montrent que chez *Peltigera Aphotosa*, l'azote assimilé par la Cyanobactérie au niveau de la céphalodie se retrouve en grande partie dans le champignon ; ceci nous indique que l'organe spécialisé dans l'absorption d'azote est la céphalodie (chez les Cyanobactéries) (OZENDA et CLAUZADE, 1970).

Compte aux substances fournies par le mycosymbiote sont les même que celles fournies par le Photosymbiote ; il les débrouille à partir du substrat, selon VAN HALUWYN et LEROND. (1993).

I.2.4 Appareil végétatif :

L'appareil végétatif des lichens est la partie de l'organisme qui est chargée de la croissance, de l'absorption des nutriments et de la protection contre les facteurs de stress environnementaux. Elle se compose principalement de deux éléments : le thalle et les rhizines.

Le thalle peut avoir différentes formes et couleurs, allant du vert au gris ou au brun. Il est généralement mince et plat, ce qui permet une absorption maximale de la lumière et des nutriments. Les rhizines sont des structures racinaires semblables à des poils, qui sont produites par le champignon. Les rhizines sont attachées au substrat sur lequel le lichen pousse et elles fournissent une ancre pour le thalle. Les rhizines ont également la fonction d'absorber l'eau et les minéraux à partir du substrat. Ensemble, le thalle et les rhizines constituent l'appareil végétatif des lichens. **(VAN HALUWYN ET LERON, 1993)**

I.2.4 Morphologie du thalle



Photos : APPA NPC & Marc BOULANGER

Figure 1 : les différents types de thalles lichéniques

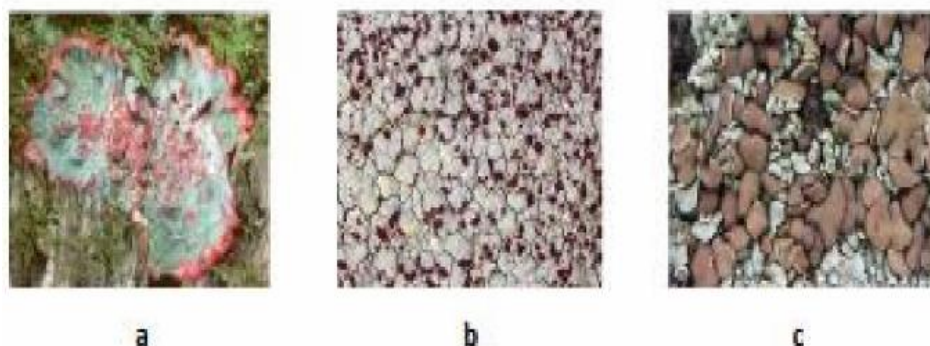


Figure 2 : Structure de quelques naphthoquinones et photographies des lichens dont elles sont issues

a : *Cryptothecia Rubrocincta* (source : <http://www.sharnoffphotos.com>);

b : *Haematomma Vantosa* (source : http://www2.ac-lille.fr/myconord/photos_aft/photos_AFL_C.htm);

c : *Squamarina Cartilaginea* (source : http://www2.ac-lille.fr/myconord/photos_aft/photos_AFL_C.htm).



Figure 3 : *Cladonia Rangiferina* (source : <http://www.sharnoffphotos.com>);

La morphologie du thalle des lichens peut varier considérablement en fonction des espèces et des environnements dans lesquels ils se développent. En général, le thalle est une structure plate ou en forme de croûte, mais il peut également être fruticuleux, foliacé, ou squamuleux. . (VAN HALUWYN ET LERON, 1993)

Le thalle fruticuleux est en forme de petits buissons, de tiges ou de branches, tandis que le thalle foliacé ressemble à des feuilles. Le thalle squamuleux est en forme de petites écailles. La surface du thalle peut également être lisse ou granuleuse, et sa couleur peut varier du vert au gris, en passant par le brun ou le noir. La couleur du thalle peut être un indicateur utile pour identifier les différentes espèces de lichens. . (VAN HALUWYN ET LERON, 1993)

À l'intérieur du thalle, les hyphes du champignon sont étroitement associés aux cellules du photobionte, formant une structure très dense et complexe. Cette structure permet une absorption maximale de la lumière et des nutriments, ainsi qu'une protection contre les facteurs de stress environnementaux tels que la sécheresse et la lumière intense. Le thalle des lichens est donc une structure essentielle pour la survie de l'organisme, car elle assure la croissance, la nutrition et la protection contre les facteurs de stress environnementaux. . (VAN HALUWYN ET LERON, 1993)

La morphologie du thalle des lichens peut varier considérablement d'une espèce à l'autre et dépend en partie de l'environnement dans lequel le lichen se développe.

Cependant, de manière générale, on peut distinguer plusieurs types de thalles de lichens

➤ **Thalle crustacé :**

C'est une croûte mince et souvent rugueuse, qui adhère étroitement à la surface sur laquelle le lichen pousse. Ce type de thalle est commun dans les milieux arides et peut souvent être confondu avec des taches sur les rochers ou les sols. (VAN HALUWYN ET LERON, 1993)

➤ **Thalle foliacé :**

C'est un thalle plat et étalé, qui ressemble à une feuille. Ce type de thalle est souvent ramifié et peut atteindre plusieurs centimètres de diamètre. Il est commun dans les milieux humides et peut être trouvé sur les arbres, les rochers et le sol. (VAN HALUWYN ET LERON, 1993)

- Le thalle foliacé ombiliqué
- Le thalle foliacé non ombiliqué

➤ **Thalle fruticuleux ou buissonnant :**

C'est un thalle qui se développe en forme de tiges ou de branches, pouvant atteindre plusieurs centimètres de hauteur. Il est commun dans les milieux humides et peut être trouvé sur les arbres et les rochers. (VAN HALUWYN ET LERON, 1993).

➤ **Thalle squamuleux :**

C'est un thalle qui ressemble à des écailles, souvent de petite taille et imbriquées les unes dans les autres. Ce type de thalle est commun dans les milieux arides et peut être trouvé sur les rochers et le sol. (VAN HALUWYN ET LERON, 1993).

La morphologie du thalle est déterminée en grande partie par l'interaction entre le champignon et le photobionte. Les lichens qui contiennent des algues vertes ont souvent des thalles verts et plats, tandis que ceux qui contiennent des cyanobactéries ont souvent des thalles grisâtres et souvent rugueux. La forme du thalle est également influencée par la disponibilité en eau, en nutriments et la présence d'autres organismes dans l'environnement.

➤ **Le thalle gélatineux :**

Se caractérisent par des thalles mous et gélatineux. Ces lichens se distinguent des autres lichens par leur texture visqueuse et leur apparence glissante. Les lichens gélatineux sont souvent de couleur verte, jaune ou brune.

Les lichens gélatineux sont généralement associés à des environnements humides, tels que les forêts tropicales, les mangroves ou les zones côtières. Ils sont souvent trouvés sur les rochers, les arbres ou les branches, où ils forment des masses visqueuses et collantes.

Ces lichens jouent un rôle important dans les écosystèmes, car ils fournissent un habitat pour une grande variété d'organismes, tels que des algues, des bactéries et des insectes. (VAN HALUWYN ET LERON, 1993)

➤ **Les thalles complexes ou composites :**

Les thalles lichéniques complexes sont souvent considérés comme des indicateurs de la qualité de l'air, car ils sont sensibles à la pollution et aux changements environnementaux. Ils peuvent être utilisés pour surveiller la qualité de l'air dans les zones urbaines et industrielles.

Cependant, les thalles possèdent une structure très spécifique qui s'est résulté de l'association algue champignon etc (VAN HALUWYN ET LERON, 1993).

➤ **La structure de thalle lichénique :**

Il existe deux types de structure de thalle déterminés par l'organisation interne des « algues » et des « hyphes » (TIEVANT, 2001).

• **La structure homéomère :**

Les cellules algales et les hyphes sont mêlés et réparties dans toute l'épaisseur du thalle, d'une façon homogène au sein d'une couche mucilagineuse (BOUCHET, 1979). , (voir la figure 04)

Ex : *Collema* (TIEVANT, 2001).

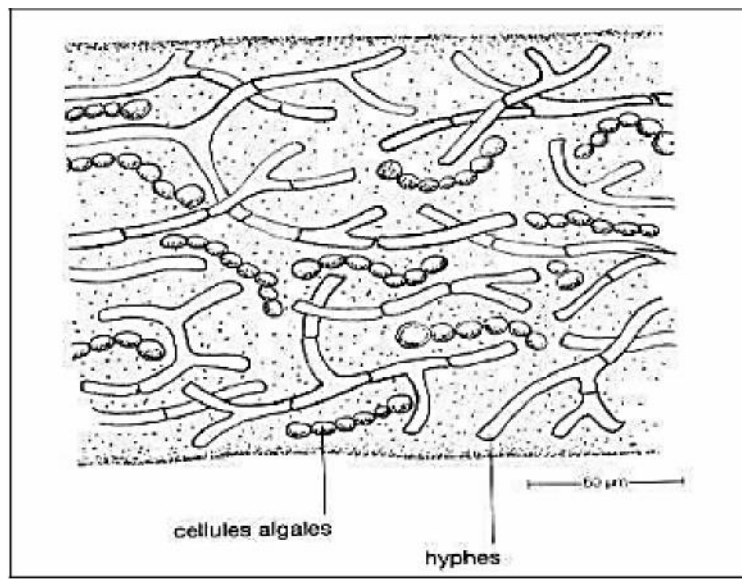


Figure 4 : structure homéomère : coupe transversale du thalle (Ozenda et Clauzade, 1970).

- **La structure hétéromère :**

Elle se distingue par l'apparence de couches très bien définies sur la section transversale du thalle, formant une structure hétéromère, où les algues sont localisées en une couche dite verte, entre la corticale et la médullaire (JODRA, 2005).

Selon (OZENDA et CLAUZADE, 1970), la structure filamenteuse de ce thalle est constituée de :

- . Cortex « écorce » superficiel d'hyphes très serrées.
- . Couche gonidiale, constituée d'hyphes beaucoup plus lâches et contenant les cellules algales.
- . Médulle « moelle » à hyphes ordinairement encore moins serrées.

- **Structure hétéromère stratifiée :**

C'est la structure de la plupart des lichens foliacés, de beaucoup de lichens crustacés et de quelques lichens fruticuleux. En coupe transversale, on observe : un cortex supérieur, une couche algale, une médulle et un cortex inférieur constitué seulement d'hyphes, très denses, pouvant donner naissance à des rhizines (voir la figure 06), (Boullard, 1990).

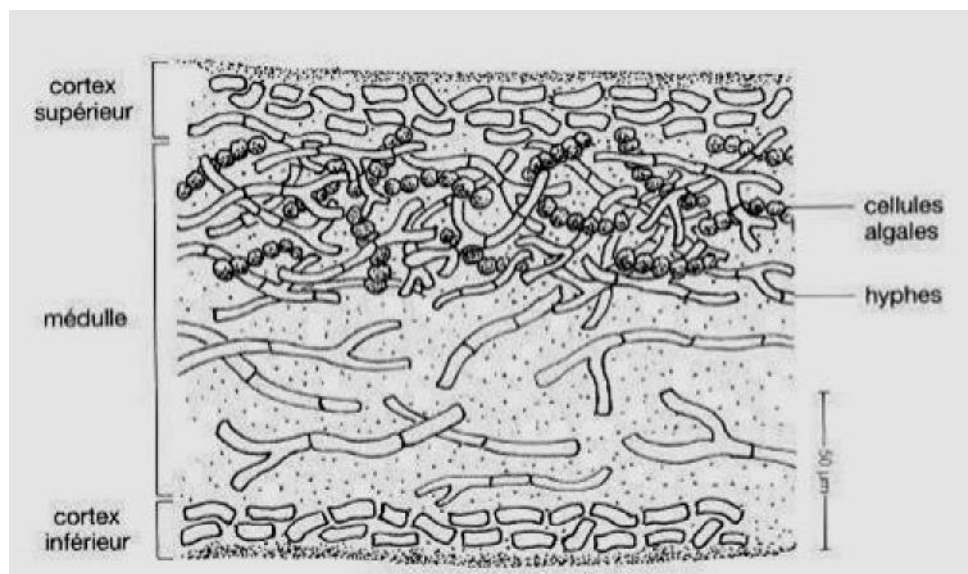


Figure 5 : structure hétéromère stratifiée : coupe transversale du thalle (**Boullard, 1990**)

- **Structure hétéromère radiée :**

Cette structure se trouve chez les thalles fruticuleux. On y retrouve les mêmes couches, mais disposées de façon concentrique, le cortex inférieur faisant défaut, bien entendu, (**voir la figure 05**)

Le thalle lichénique est la structure principale du lichen, résultant de l'association symbiotique entre un champignon et une algue ou une cyanobactérie. La structure du thalle varie selon les espèces de lichens et les conditions environnementales, mais en général

Le thalle est composé des parties suivantes :

-**La couche supérieure ou cortex :**

Il s'agit de la couche externe du thalle, généralement formée de cellules fongiques serrées et pigmentées. Elle protège le lichen contre les dommages physiques et les rayons UV.

-**La couche interne ou médulle :**

Il s'agit de la couche intérieure du thalle, qui contient les cellules photosynthétiques de l'algue ou de la cyanobactérie, ainsi que les hyphes fongiques qui entrelacent et maintiennent la structure du thalle.

-**Les rhizines :**

Il s'agit de structures en forme de racine qui ancrent le lichen sur son support. Les

rhizines peuvent être simples ou ramifiées, selon les espèces de lichens. , (voir la figure 07)

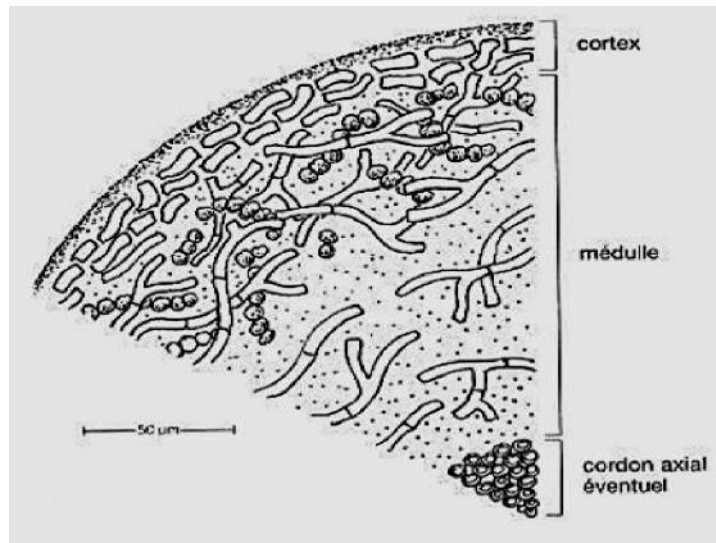


Figure 6 : Structure hétéromère radiée : coupe transversale du thalle (Boullard, 1990)

- En résumé,

La structure du thalle lichenique est complexe et variée, avec des couches fongiques et photosynthétiques imbriquées les unes dans les autres, formant une structure résiliente qui permet au lichen de survivre dans une grande variété d'environnements (VAN HALUWYN ET LERON, 1993).

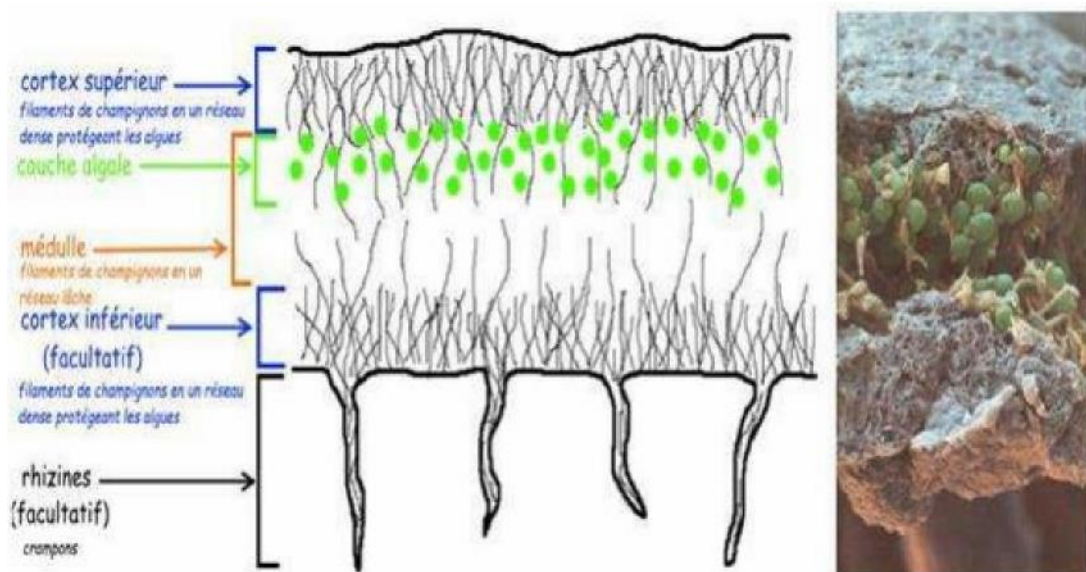


Figure 7 : anatomie et structure de lichens (Hale, 1974).

I.2.4 Reproduction des lichens

Elle s'applique soit par multiplication végétative ; soit par reproduction sexuée du champignon ;

➤ Multiplication végétative

Se fait par dissémination de fragments du complexe lichénique, c'est-à-dire bouturage, et/ou émission de corpuscules très spéciaux : les sorédies et les isides (**OZENDA et CLAUZADE, 1970**).

1. Sorédies :

Masse poudreuse de cellules d'algues enchevêtrées d'hyphes fongiques, produite par une fente de l'écorce au niveau de laquelle la médulle du lichen se résout en une poussière farineuse de sorédies (**OZENDA, 2000**).

En faveurs de leurs poids légers, ils sont transportés très facilement par le vent, la pluie, les insectes, ainsi permettent la dissémination de l'espèce (**ANONYME 05,2010**).

2. Isides :

Structures en bâtonnets ou ramifiées qui poussent sur la surface du thalle puis qui s'en détachent très facilement, et qui contrairement aux sorédies leurs poids est plus lourd, donc elles ne peuvent être transportées aussi loin, elles assurent une colonisation du substrat (**SERUSIAUX et AL., 2004**).

I.1.2.2 Reproduction sexuée :

La reproduction sexuée des lichens implique la fusion de deux types de cellules reproductrices, les gamètes, pour former un zygote. Les gamètes sont produits par des structures spécialisées appelées organes reproducteurs. Chez les lichens, les organes reproducteurs se présentent sous forme de disques ou de petits bourgeons sur le thalle.

Des hyphes sexuellement différenciés fusionnent et donnent à la surface du thalle des structures organisées, en forme de coupe (apothécie), en forme de petit bâtonnet ressemblant à de l'écriture chinoise (lirelles) ou en forme de petites poires enfoncées dans le thalle (périthèces) (**ROBERT ENGLER**).

Les hyphes contiennent des cellules à n chromosomes (haploïdes). Après fusion des noyaux, (caryogamie), ce qui correspond à une fécondation, les cellules (dicaryons) possèdent des noyaux à $2n$ chromosomes (diploïdes) cette fusion est immédiatement suivie d'une méiose (mitose réductionnelle) donnant naissance à une cellule à 4 noyaux à n chromosomes. La méiose est suivie d'une ou plusieurs mitoses donnant naissance à une cellule appelée asque possédant 8 noyaux ou un multiple de 8 noyaux. Ces noyaux à n chromosomes évoluent en spores. Les spores sont libérées des asques dans le milieu naturel et doivent rencontrer une algue terrestre libre pour édifier un nouveau thalle lichénique.

- Les apothécies :

Sont comme de petites cupules dont le disque est en fait la partie supérieure de l'hyménium ; la surface de l'apothécie est donc constituée principalement par les sommets des asques (remplis d'ascospores), lesquels sont donc tous en contact quasi direct avec l'extérieur (SERUSIAUX et AL., 2004).

- Les périthèces :

Sont en forme de poche souvent enfoncée dans le thalle, et qui s'ouvre par un pore dans sa partie supérieure (BERNARD, 2011), contenant l'hyménium et dont le contact avec l'extérieur se fait au travers d'une petite ouverture, punctiforme et située au sommet du périthèce, appelée **ostiole**.

La dispersion des ascospores se fait uniquement par l'ostiole, qui est fréquemment en partie obstrué par des filaments stériles, les **périphyses** (SERUSIAUX et AL., 2004).

➤ **Croissance et nutrition des lichens :**

I.2.4 La croissance des lichens :

Selon (SERUSIAUX et AL., 2004), généralement, la croissance annuelle est de :

- 0,5 à 2 mm pour un crustacé ;
- 0,5 à 4 mm pour un foliacé ;
- 1,5 à 5 mm pour un fruticuleux.

Elle est aussi régulée par la composition du substrat (besoins nutritifs) ;

absorbé par les espèces à gonidies Nostoc ou possédant des céphalodies, les Nostoc ayant en effet la propriété de fixer l'azote atmosphérique (**DES ABBAYES, 2012**).

I.2.4 La construction biochimique des lichens :

I.1.2.1 Constituants du protoplasme :

- o Composés minérales

 - o Composés organique
- Les hydrates de carbones : sont de faible poids moléculaire, comptent 3 à 5 % du poids sec du thalle ; LINDBERG et ses collaborateurs ont mis en évidence la présence de disaccharides (sucrose, α -trehalose, umbilicine) et de polyols (érythritol, D - mannitol, volemitol, siphulitol) (**MASON et HALE, 1967**).
- Glucides : sont les principales substances de réserve des hyphes qui sont les molécules de glycogène (**OZENDA et CLAUZADE, 1970**)
- Lipides : sont localisés dans les paraphyses de l'hyménium, et utilisés par les spores lors de leurs germinations (**COSTE, 2008**).

Cas des thalles endolithiques ils sont excrétés comme déchet puisqu'ils ne sont pas utilisés par le lichen (**OZENDA et CLAUZADE, 1970**).

- Acides nucléiques et les protides : le pourcentage des protides est très variable (2 à 10 % du poids sec). Compte aux acides aminés, ils ont montré une grande diversité comme : la leucine, la phénylalanine, le tryptophane, la lysine (**COSTE, 2008**), ainsi que l'isoleucine, la thréonine, la valine, la méthionine, l'arginine, l'alanine, la sérine, la glycine, l'acide glutamique, la proline, la sarcosine, α -acide aminobutyrique, γ -acide aminobutyrique et l'asparagine (**MASON et HALE, 1967**). L'hydrophobine est une protéine constitutive des lichens synthétisée par le mycobionte, elle s'étend sur la surface du photobionte dès le début de la fusion des deux partenaires formant ainsi un revêtement continu, jouant le rôle de cuticule qui limite la circulation de l'eau (**ROBERT et CATESSON, 2000**).

- o Pigments : Les lichens peuvent contenir divers pigments, tels que la chlorophylle (vert), les caroténoïdes (jaune, orange) et les anthocyanes (rouge, violet). Ces pigments sont impliqués dans la photosynthèse, la protection contre les dommages causés par la lumière et la pigmentation des thalles lichéniques (**OZENDA et CLAUZADE, 1970**).

- o Métabolites secondaires : Les lichens sont connus pour leur production de métabolites secondaires uniques. Ces composés, tels que les acides usniques, les atranorines, les acides stictiques, etc., confèrent aux lichens diverses propriétés biologiques, notamment des activités antimicrobiennes, antioxydantes et antifongiques. Il convient de noter que la composition du protoplasme des cellules lichéniques peut varier en fonction du type de lichen et de son environnement. **Fischer** a synthétisé au laboratoire la première substance lichénique (**MASON et HALE, 1967**).

Parmi les substances spécifiques des lichens **SERUSIAUX et AL. (2004)** ont dénombrés 630 métabolites secondaires chez les champignons lichénisés, et 60 autres non spécifiques aux lichens.

Ils sont souvent apparentés aux produits de biosynthèse par les mycètes non symbiotiques (**CULBERSON et ELIX, 1989**). Généralement, c'est des dérivés de métabolites primaires, à poids moléculaire faible, structure très variable et hydrophobes mais solubles dans les solvants organiques (**BRUNETON, 1999**).

Selon **HONEGGER (1986)**, les métabolites secondaires se localisent dans le double cortex, notamment les pigments d'acide usnique. La médulle et la couche algale abritent les substances incolores dont les depsides et les depsidones. ; et substances lichéniques se disposent et s'accumulent sur la surface des hyphes fongiques ces composés phénoliques sont produits par le mycobionte. Cependant, certaines substances cristallisées sont produites par le photobionte, et y sont localisées à l'intérieur de la cellule et d'autres y sont localisées au niveau de la paroi lichénique.

I.2.4 Substances contenues dans la membrane gonidale et membrane des hyphes

Elles sont constituées principalement de la cellulose associée à des sels de calcium et à des composés pectiques. Par contre les substances qui entrent dans la constitution des membranes des hyphes sont mieux connues, elles varient d'une espèce à l'autre et elles sont

constituées essentiellement de : substances minérales, glucides, composés pectiques, chitines et pigments (**OZENDA et CLAUZADE 1970**).

I.2.4 Substances rejetées à l'extérieur des cellules licheniques :

o Oxalate de calcium :

L'oxalate de calcium est une substance cristalline qui se présente sous la forme de cristaux insolubles. Dans les lichens, il est souvent présent sous la forme de cristaux d'aiguilles ou de cristaux en forme de prismes (**OZENDA et CLAUZADE, 1970**).

La présence d'oxalate de calcium dans les cellules de lichens peut servir plusieurs fonctions. L'une des fonctions potentielles est la régulation de l'équilibre hydrique. Les cristaux d'oxalate de calcium peuvent agir comme des réservoirs de calcium et d'ions oxalate, permettant aux lichens de réguler leur teneur en eau et de résister aux conditions environnementales difficiles telles que la sécheresse (**OZENDA et CLAUZADE, 1970**).

De plus, l'oxalate de calcium peut également jouer un rôle dans la protection contre les herbivores. Les cristaux d'oxalate de calcium peuvent être toxiques ou irritants pour certains animaux qui pourraient consommer les lichens. Cela peut dissuader les herbivores et contribuer à la survie des lichens (**OZENDA et CLAUZADE, 1970**).

Il est important de noter que la présence d'oxalate de calcium peut varier selon les espèces de lichens et les conditions environnementales et aussi selon l'âge du lichen. Certains lichens peuvent contenir de plus grandes quantités d'oxalate de calcium que d'autres, et sa présence peut également être influencée par des facteurs tels que l'exposition à la lumière, l'humidité et la disponibilité des nutriments (**OZENDA et CLAUZADE, 1970**).

o Les lipides

Ce sont des gouttelettes d'huile situées à la surface de la paraphyse et sont utilisées dans la distinction des espèces (**SOUCHON, 1971**).

o Substances licheniques

Les substances licheniques ont été trouvées dans toutes les parties sauf dans le cortex

inférieur et la couche gonidiale. Elles se présentent sous forme de minuscules cristaux ou de granulations disposées à la surface des hyphes et se considèrent comme métabolites secondaires (OZENDA et CLAUZADE, 1970).

Les lichens sont connus pour leur production de métabolites secondaires uniques. Ces composés, tels que les acides usniques, les atranorines, les acides stictiques, etc., confèrent aux lichens diverses propriétés biologiques, notamment des activités antimicrobiennes, antioxydantes et antifongiques. Il convient de noter que la composition du protoplasme des cellules lichéniques peut varier en fonction du type de lichen et de son environnement (OZENDA et CLAUZADE, 1970).

I.2.4 Usage des lichens

I.1.2.1 Usages alimentaires

o Dans l'alimentation humaine et dans l'alimentation des animaux

Les lichens constituent un fourrage substantiel aux rennes, en Laponie, les hommes, à travers les âges et les périodes de pénurie les ont utilisées comme aliments, même si leurs qualités gustatives sont loin d'être évidentes.

En Laponie, les femmes en font une sorte de gruau en temps de nécessité. Les Indiens du Canada tiraient de *Bryoria fuscescens* une sorte de pâte noirâtre qui constituait leur dernier recours alimentaire. Plus couramment, ils utilisaient *Umbilicaria muhlenbergii*, bouilli avec du poisson.

Durant la seconde guerre mondiale en URSS, une manufacture a été créée pour extraire du glucose de certains lichens, afin de pallier le manque de betterave à sucre.

Lecanora Esculenta est consommé en Perse par les paysans qui en font une sorte de pain appelé « schirsad », et au Japon, dans le district de Chichibu, il est préparé commercialement, et vendu sous le nom de « iwatake ».

I.1.2.2 Usages médicaux

Les lichens ont été utilisés depuis la nuit des temps, par les indiens d'Amérique, les égyptiens, les indiens et les chinois car ils se sont aperçus des différentes propriétés thérapeutiques que possèdent plusieurs espèces de lichens, pour traiter les maux et en premier lieu comme expectorant (EL IX, 1996). Le lichen *Peltigera canina*, un lichen foliacé à cyanobactérie et riche en méthionine, était utilisé en Inde comme remède contre les maux

hépatiques et ils fabriquent des mélanges d'où moins deux espèces de: *Ramalina subcomplanata*, *Parmelia* et *Heterodermia termulans* sont vendus sous le nom de « Chharila » qui sont utilisées comme : astringent, laxatif et carminatif (shukla et al, 2010).

Dans différentes pharmacopées, de nombreuses espèces de lichens possédant une activité thérapeutique sont recensées telles que : *Cetraria Islandica*, *Cladonia Coccifera*, *Usnea Plicata*, *Peltigera Canina*, *Lobaria Pulmonaria*, *Xanthoria Parietina* et *Evernia Prunastri* (SAKLANI et UPRETI, 1992) ; ça en ce qui concerne la médecine traditionnelle ;

Concernant, la médecine moderne, des études en Islande et en Allemagne en été menées sur une espèce de lichen qui se nomme « *Cetraria Islandica* » ou « mousse d'Islande » ; et ont conduit au développement de capsules et de tablettes à base d'extraits de ce lichen ; qui sont utilisées en cas d'obstruction intestinale, d'ulcère gastrique, d'arthrite et d'asthme (PODTERB, 2008).

Letharia Vulpina est toxique et a été utilisé autrefois pour fabriquer des appâts empoisonnés contre les Loups et les Renard ;

Une autre substance antibactérienne a été obtenue à l'état cristallisé à partir de *Ramalina Reticula* ; elle est active contre divers Pneumocoques, Staphylocoques, mais toujours à des doses beaucoup plus fortes (de l'ordre de 1/20 000) que celles des antibiotiques habituels, (OZENDA, 2000).

I.1.2.3 Usages industriels

o Matière colorante

Il s'agit des substances du groupe depside colorables en rouge pour les hypochlorites susceptibles de donner après plusieurs transformations des couleurs pourpres ou bleu que l'on désigne sous le nom de « Orseille » ; se sont extraites surtout des : Rocelles, qui croissent sur les roches littorales, notamment en Afrique occidentale (OZENDA, 2000). L'origine d'une industrie concernant l'utilisation des lichens à des fins tinctoriales remonte au début du XIV^{ème} siècle. L'orseille, une substance colorante de couleur violette extraite de certains lichens (*Rocella fuciformis* notamment), a été utilisée jusque vers la fin du XIX^{ème} siècle.

Aujourd'hui encore, des bandelettes de papier imprégnées de litmus, un colorant extrait par l'eau à partir de *Rocella sp*, sont utilisées comme indicateurs de pH en laboratoire (Mitrovic et al, 2011).

Actuellement, les lichens tant que fournisseurs de matière colorante ne sont plus guère utilisés en raison de l'emploi de colorants synthétiques (OZENDA, 2000).

○ Mucilage

On peut également en extraire des substances mucilagineuses de différents lichens par extraction à l'eau chaude et éventuellement par hydrolyse partielle, qui peuvent être utilisés comme succédanés de gomme arabique notamment pour l'encollage des tissus (OZENDA et CLAUZADE, 1970)

○ Parfums

A l'heure actuelle, les extraits des lichens *Evernia prunastri* (ou « mousse de chêne ») et *Pseudevernia furfuracea* (ou « mousse d'arbre ») sont largement utilisés en parfumerie pour leur note marine boisée respective, en particulier dans les eaux de toilette masculines. Outre les parfums, certains extraits lichéniques trouvent dans des produits de soin, tels que des déodorants ou les produits cosmétiques ; par exemple : les marques Polaar et Vertumne a Vénus proposent des gammes de produits à base d'extraits de *Cetraria islandica* pour lequel elles revendiquent des propriétés hydratantes, purifiantes, antiseptiques et antioxydantes (Julain et Tabacchi, 2009).



Figure 8 : Exemple de produits contenant des extraits de lichens (de gauche à droite) : parfum masculin d'hermès, déodorant d'Earth Science, gel-raffermissant de Polaar et lotion hydratante pour les mains de Vertumne à Vénus.

I.2.4 Ecologie des lichens

I.1.2.1 Facteurs édaphiques

Ils agissent par des caractères physico-chimiques du milieu naturel, Selon la nature du substrat on distingue plusieurs espèces :

- **Espèces corticoles** : se croient sur l'écorce des arbres, exemple : *Graphis Scripta*.

Les lichens corticoles n'absorbent aucun élément nutritif de leur support, en revanche, sont très sensibles aux caractéristiques mécaniques et chimiques de celui-ci (SERUSIAUX et AL. 2004).

- **Espèces saxicoles** : couvrent les roches calcaires, vieux murs, etc. exemple : *Parmelia Conspesa*.

Selon, BERNARD (2011), ils ont une haute capacité à retenir l'eau et y sont déterminés par la nature chimique du support.

- **Espèces terricoles** : vient sur l'humus et la terre, dans les landes, les pelouses, le sol minéral ou humifère là où ils se mettent à l'abri de la compétition des plantes à fleurs (BERNARD, 2011). Exemple : *Cladonia. Sp*.
- **Espèces aquatiques** : comprennent les lichens hydrophiles qui colonisent les rochers situés sur les bergers des cours d'eau et les lichens ékrophiles qui colonisent à des écoulements prolongés postérieurs aux pluies (COSTRE, 2009).

- Le pH du support détermine aussi plusieurs groupes d'espèces ;

- Acidophiles *Plarysma glaucum*.
- Certains préfèrent *Parmelia ocetabulum*.
- Basophiles *Collema*.

Pour les espèces qui se développent sur les roches ou à terre, on note selon la composition chimique du substrat, la présence calcicoles *Collema*, calcifuges *Umbilicaria* ou humicoles *Cladonia* (SOUCHON, 1971).

I.1.2.2 Facteurs climatiques :

Ils peuvent être trouvés dans une variété d'environnements, mais certains facteurs climatiques sont essentiels à leur croissance et à leur survie. Voici quelques-uns des facteurs climatiques importants pour les lichens :

o L'humidité :

Les lichens à algues vertes ont besoin d'un certain degré d'humidité pour survivre. Ce qui explique la présence de populations exubérantes de lichens dans les déserts à bouillards très fréquents. Certains lichens peuvent tolérer des conditions relativement sèches, par exemple près des côtes, dans les forêts humides (SERUSIAUX et AL. 2004).

o La température :

Les lichens peuvent être trouvés dans une large gamme de températures, allant des régions polaires aux régions tropicales et désertiques. La température influence l'intensité des fonctionnements métaboliques et la résistance aux conditions extrêmes de température (GOUJON, 2004). Pour les espèces qui habitent les régions froides, elles ont acquis la capacité de photosynthétiser à des températures proches du point de congélation ; et peuvent concurrencer les plantes supérieures et former de véritables landes lichéniques terricoles (KIRSCHBAUM et WIRTH, 1997).

o La lumière :

Intensité lumineuse : Les lichens sont des organismes photosynthétiques qui ont besoin de lumière pour produire de l'énergie (SERUSIAUX et AL. 2004). Cependant, certains lichens peuvent survivre dans des environnements ombragés, ou à faible luminosité, tandis que d'autres prospèrent dans des zones plus lumineuses et exposées au soleil (GREGORY et BETH DIMIJIAN, 2004)

Ils sont pratiquement tous des végétaux héliophiles ; seul une minorité d'espèces comprennent presque exclusivement des lichens à cyanophycées (**OZENDA et CLAUZADE, 1970**).

o **Qualité de l'air :**

Les lichens sont sensibles à la pollution atmosphérique et à la qualité de l'air. Certains types de lichens sont plus tolérants à la pollution, tandis que d'autres sont très sensibles et peuvent être utilisés comme indicateurs de la qualité de l'air. Les lichens sont souvent absents dans les environnements très pollués (**OZENDA et CLAUZADE, 1970**).

o **Le vent :** Voici quelques-uns des effets du vent sur les lichens :

Dispersion des spores joue un rôle crucial dans la dispersion des spores des lichens. Et la déshydratation ; le vent peut accélérer ce processus. Lorsque le vent souffle sur les lichens, il peut entraîner une augmentation de l'évaporation de l'eau contenue dans les tissus du lichen. Une exposition prolongée au vent sec peut être préjudiciable aux lichens, surtout s'ils ne reçoivent pas suffisamment d'eau pour compenser la perte due à l'évaporation (**GOUJON, 2004**).

Il convient de noter que l'effet spécifique du vent sur les lichens peut varier en fonction des espèces de lichens et des conditions environnementales. Certains lichens sont mieux adaptés à des environnements ventés, tandis que d'autres peuvent être plus sensibles aux effets du vent (**SOU C HON, 1971**).

I.2.4 Facteurs biologiques :

o **La végétation :**

La concurrence vitale se traduit entre les espèces lichéniques eux même et avec d'autres plantes telles que les phanérogames qui modifient les conditions climatiques et substratiques en créant des microclimats et des micros stations (**VANHALLUWYN et LEROND, 1993**).

○ **Les animaux et l'homme :**

Les animaux peuvent être des modificateurs locaux de l'environnement par leur Décomposition. L'homme peut jouer un rôle significatif en tant que facteur biologique dans l'évolution des lichens, en particulier à travers des activités anthropiques. Voici quelques exemples de l'impact de l'homme sur les lichens :

- **Pollution atmosphérique**
- **Dégradation de l'habitat**
- **Changement climatique :**
- **Introduction d'espèces exotiques :**

Il est important de noter que l'homme peut également jouer un rôle positif dans la conservation et la préservation des lichens. La sensibilisation à l'importance des lichens en tant qu'indicateurs environnementaux et en tant que composants essentiels des écosystèmes peut conduire à des mesures de conservation et à des pratiques durables pour préserver ces organismes uniques.

Chapitre II partie I
Biochimie des lichens étudiés

II Présentation des lichens étudiés :

II.2.4 Présentation de l'espèce *Cladonia portentosa*

- **Thalle primaire** : disparaissant totalement ; pas de squamules à la base ou sur les podétions.

Podétions : non scyphifères , 4-10 cm de hauteur, \pm uniformément vert \pm jaunâtre, en forme d'arbuscules \pm dressés, à croissance indéfinie, mourant par leur base, dépourvus de squamules et de cortex, à extrémités courtes, di- ou trichotomes, ayant tendance à se courber dans toutes les directions ; aisselles souvent perforées. Certaines ramifications peuvent avoir un diamètre très fin, d'autres un diamètre plus important (troncs) suite à des divisions trichotomes inégale.(voir figure 12)

Les ramifications de podétions voisins se regroupent souvent pour former des têtes globuleuses.

Les pointes peuvent porter des pycnides contenant une gelée interne incolore. (**Voir les figures 09 et 10**)

Chimie : contient des depsides et des depsidones comme l'acide perlatolique.

Ecologie : lichen commun rencontré sur l'humus des landes, sur sol acide, c'est un lichen terricole.

Remarque : se reconnaît par ses podétions dépourvus de squamules et groupés en tête globuleuses, ses terminaisons courbées dans toutes les directions.

(La revue de l'association française de lichénologie)



Figure 9 : *Cladonia portentosa* en forme de coussinets.



Figure 10 : *Cladonia portentosa* thalle complet.



Figure 11 : photo de *Cladonia portentosa* dans son milieu naturel.



Figure 12 : podétions de *Cladonia portentosa* prit par une loupe binoculaire.

II.2.4 Présentation de l'espèce *Hypogymnia farinacea* :



Figure 13 : photo de l'espèce *Hypogymnia farinacea* dans son milieu naturel.

Thalle : foliacé formant des rosettes apprimées ayant jusqu'à 5cm de diamètre, lobes larges de 1-3 mm, ± convexes mais aplatis aux extrémités, se chevauchant, ridés, gris clair (parfois un peu jaunâtre ou verdâtre). Isidies en saillies et plis, l'un et l'autre donnant naissance à des soralies un peu plus jaunâtres que le thalle et à la fin ± groupées et envahissantes. Face inférieure noire au centre, brune au pourtour. (voir la figure 13)

Photosymbiote : algue verte autre que trentépothia.

Chimie : synthétise des molécules de nature depsides et depsidones, cas de l'acide physodique.

Apothécies : très rares mais présente sur le spécimen photographié par **Jean-Yves Bousserau**.

Habitat : corticole, sur conifères ou feuillus, très acidophile, ou saxicole calcifuge ; photophile ou héliophile, non nitrophile. Montagnes et régions froides jusqu'à l'étage subalpin.

Remarque : Assez peu commun. Non menacé.

II.2 Distribution de l'acide physodique :

L'acide physodique est un composé chimique que l'on trouve dans certains types de lichens. Plus spécifiquement, il a été isolé pour la première fois à partir du lichen *Physcia Tenella*, d'où son nom. Ce lichen est l'une des sources de l'acide physodique, il est retrouvé bien aussi chez *Hypogymnia farinaceae*. (La source : **La revue de l'association française de lichénologie**)

II.2.4 Chimie et biosynthèse de l'acide physodique :

II.2.2.1 Chimie

L'acide physodique est un composé chimique spécifique que l'on trouve dans certains lichens (*Hypogymnia farinaceae*). Sa structure chimique a été identifiée, et il appartient à une classe de composés appelés depsidones. (La source : **La revue de l'association française de lichénologie**)

Les depsidones forment une classe parmi les métabolites secondaires qui sont le plus souvent produits par des lichens, (STOJANOVUC, 2012). Les depsidones résultent probablement de la cyclisation oxydative des depsides, mais seule quelques-unes ont pu être rattachées à des depsides connus (NODO, 2006).

La formation de ces derniers implique, un hydroxylation en C5 du noyau B, suivie d'une migration d'un groupement acyle et d'un réarrangement qui conduit au finale à la depsidones à deux noyaux benzéniques A et B doublement pontés par un lien ester en position 1-4' et par un lien éther en position 2-5' (DAHL, 2003).

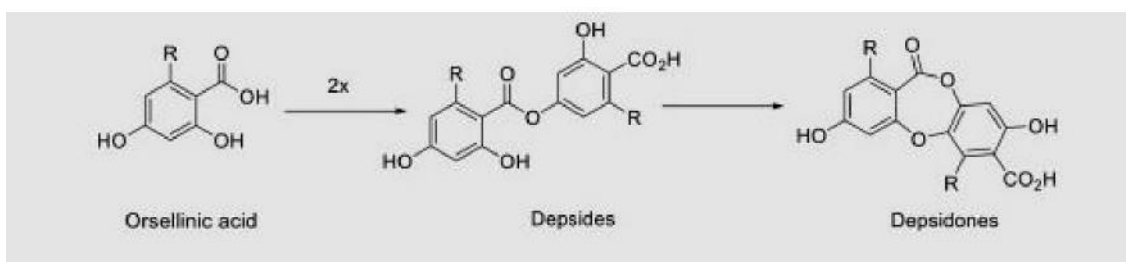


Figure 14 : Biogenèse des depsides et depsidones à partir l'acide orsellinique

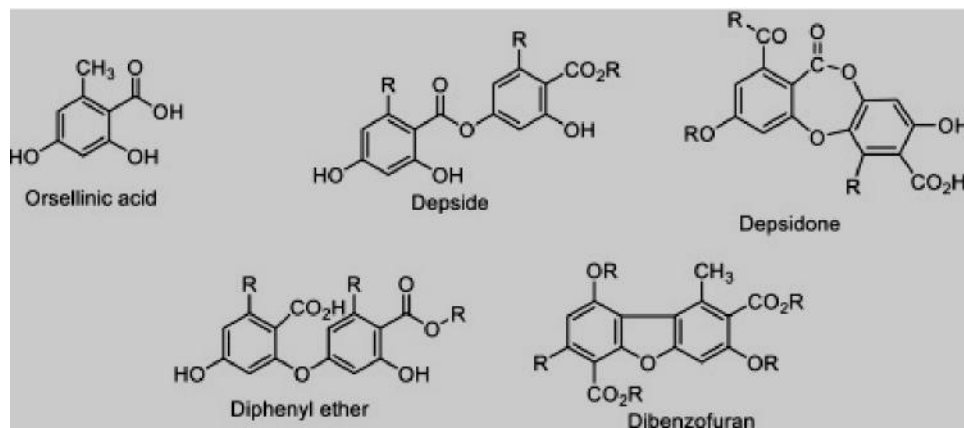


Figure 15 : structure chimique des molécules lichéniques

La formule chimique brute de l'acide physodique est $C_{21}H_{24}O_8$, ce qui signifie qu'il est composé de 21 atomes de carbone, 24 atomes d'hydrogène et 8 atomes d'oxygène.

II.2.2.2 Voie de biosynthèse des depsidones (acide physodique)

• Par la voie des acétogenines (poly acétate)

Pour la biosynthèse de l'acide physodique, il est probable que des réactions enzymatiques spécifiques soient impliquées, en utilisant des précurseurs plus simples. Voici une vue d'ensemble générale de la biosynthèse des depsides dans les lichens, qui peut également s'appliquer à l'acide physodique.

Selon **VAN HALUWYN et LEROND (1993)**, cette voie conduit à la synthèse des Composés suivants :

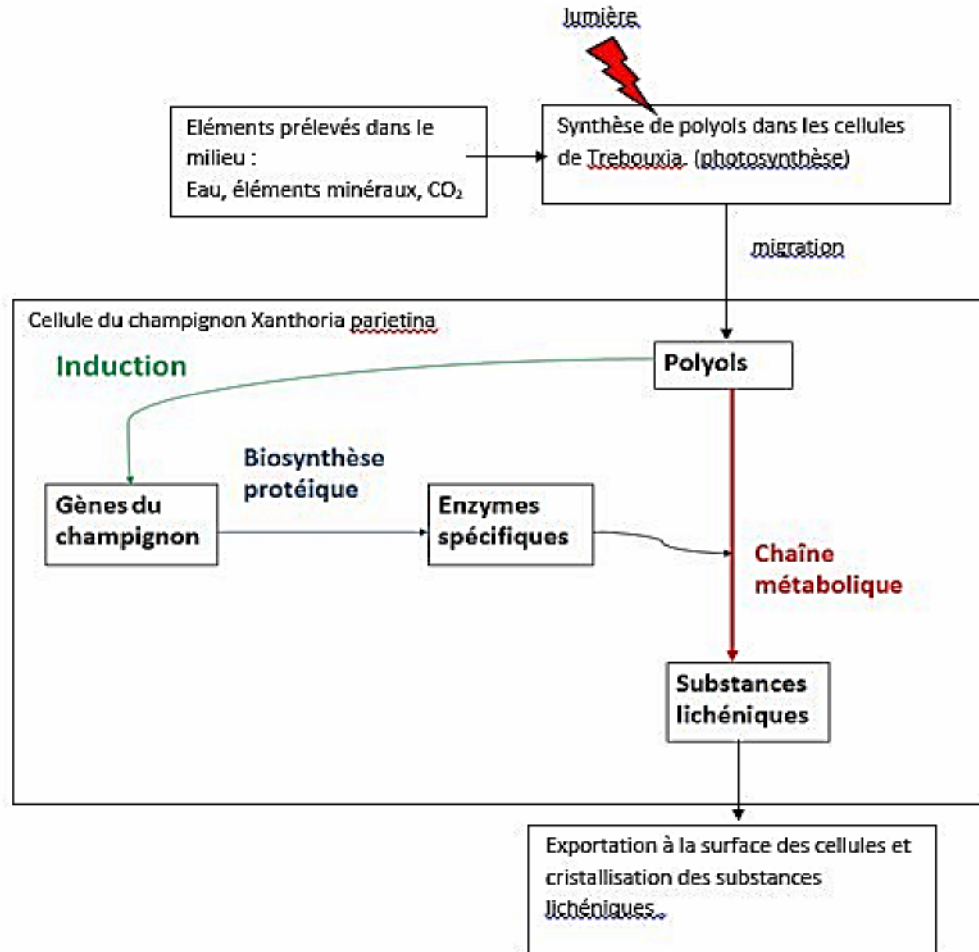
- ✓ Acides aliphatiques et lactones ;
 - . Acide capératique
 - . Acide roccellique
 - . Acide protolichestérique
- ✓ Acides aromatiques :

<ul style="list-style-type: none"> . Depsides . Depsidones . Depsones . Dibenzofuranes . Acide usnique 	<ul style="list-style-type: none"> . Dibenzoquinones . Anthraquinones . Xanthonnes . Naphtoquinones . Chromones
---	--

Une série d'acides aliphatiques et lactones est synthétisée par condensation d'un acide gras linéaire à longue chaîne avec une unité à quatre atomes de carbones (BODO, 2006).

Pour les acides aromatiques, la voie de biosynthèse utilise comme précurseur l'acide acétique activé sous forme d'acétyl-S-coenzyme A (BRUNTON, 1999).

Le couplage des unités acétates conduit à la formation des poly- β -cétoesters qui, après cyclisation, donnent naissance aux composés mono ou polycycliques (DAHL, 2003).



Induction = activation de l'expression de certains gènes.

Figure 14: biogenèse des substances lichéniques

II.2.2.3 Localisation de l'acide physodique chez les lichens (*Hypogymnia Farinaceae*)

L'acide physodique est principalement localisé à l'intérieur des lichens, plus précisément dans les structures cellulaires du champignon qui compose le lichen. Voici comment il est généralement réparti dans les lichens :

Thalles : l'acide physodique est généralement synthétisé dans les cellules fongiques du thalle. (La source : **La revue de l'association française de lichénologie**)

Tissus fongiques : à l'intérieur des cellules fongiques du lichen, l'acide physodique est produit et stocké. Les composés métaboliques produits par le champignon, y compris l'acide physodique, peuvent être stockés dans des vacuoles ou d'autres organites cellulaires. (La source : **La revue de l'association française de lichénologie**)

- **Extractions** : pour isoler l'acide physodique à des fins de recherche ou d'applications pharmaceutiques, on peut effectuer des extractions à partir des thalles de lichens. Ces extractions consistent à dissocier les composés chimiques du lichen, y compris l'acide physodique, des autres composants cellulaires et des tissus du lichen (**BOUSTIE, 2011**).

II.2.2.4 Concentration de l'acide physodique dans le thalle lichénique

Les concentrations d'acide physodique dans les cellules fongiques du thalle peuvent varier de traces à quelques pourcentages de la masse sèche du thalle, en fonction des conditions environnementales, de la santé du lichen et d'autres facteurs. Dans certains cas, certaines espèces de lichens peuvent contenir des quantités relativement élevées d'acide physodique, tandis que d'autres peuvent en contenir très peu ou pas du tout.

La quantification précise de la concentration d'acide physodique dans le thalle d'un lichen spécifique nécessiterait des analyses de laboratoire, telles que la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) ou la spectrométrie de masse, qui sont des méthodes couramment utilisées pour identifier et quantifier les métabolites dans les lichens.

La concentration d'acide physodique dans le thalle lichénique est un facteur crucial pour évaluer la toxicité potentielle et les propriétés biologiques du lichen, ainsi que pour

déterminer son potentiel d'utilisation dans diverses applications, telles que la médecine traditionnelle, l'industrie cosmétique et la recherche scientifique. (BJERKE et al, 2004).

II.2.2.5 Effet écologique de l'acide physodique

L'acide physodique peut avoir plusieurs effets écologiques, à la fois sur les lichens eux-mêmes et sur leur environnement. Voici quelques-uns des effets écologiques potentiels de l'acide physodique :

- . Protection contre les prédateurs et les herbivores
 - . Protection contre les infections microbiennes ;
 - . Modulation de la compétition entre lichens ;
 - . Interaction avec d'autres organismes ;
 - . Modification de l'environnement microclimatique;
 - . Écophysiologie des lichens.

II.2.2.6 Rôles biologiques de l'acide physodique dans le lichen

L'acide physodique joue un rôle multifonctionnel dans la protection, la défense et la survie des lichens dans leur environnement. Ses propriétés antibactériennes, antifongiques et antioxydantes en font un composé important pour la biologie des lichens, contribuant à leur capacité à coloniser divers habitats et à prospérer dans des conditions souvent rigoureuses (VASILIOS et FRANKOS, 2005).

II.2.2.7 Distribution de l'acide perlatolique (*Cladonia portentosa*)

L'acide perlatolique se trouve dans les lichens qui ont la capacité de le produire. Ces lichens ont généralement des exigences environnementales spécifiques, telles que des substrats particuliers, des conditions de luminosité et d'humidité spécifiques. Par conséquent, la distribution de l'acide perlatolique est liée à la présence de ces lichens dans des habitats particuliers. La distribution de l'acide perlatolique est donc assez restreinte et dépendante de la présence de lichens producteurs dans des habitats spécifiques.

(La source : La revue de l'association française de lichénologie)

II.2.4 Chimie et biosynthèse de l'acide perlatolique

II.2.2.1 Chimie

L'acide perlatolique est un composé chimique qui peut être trouvé dans certains lichens. Il appartient à la classe des métabolites produits par les lichens, qui sont souvent des composés complexes ayant des structures chimiques variées. Malheureusement, des informations chimiques détaillées sur l'acide perlatolique ne sont pas largement disponibles dans la littérature scientifique en raison de sa rareté et de sa spécificité à certaines espèces de lichens (retrouvé chez l'espèce *Cladonia portentosa*).

Les depsides dérivent tous de l'acide orsellinique, et l'acide β - orsellinique, leur squelette de base est formé par l'estérification intermoléculaire de ces acides, le -COOH du premier noyau (A) directement lié sur le groupe hydroxyle OH (qui est en position para avec le groupement carboxylique) du deuxième noyau (B) (MASON et HALE, 1967), comme indiqué dans la figure 16

La formule détaillée de l'acide perlatolique est la suivante ($C_{25}H_{32}O_7$) constituée de 25 atomes de carbone, de 32 atomes d'hydrogène et de 7 atomes d'oxygène. Sa structure chimique est la suivante :

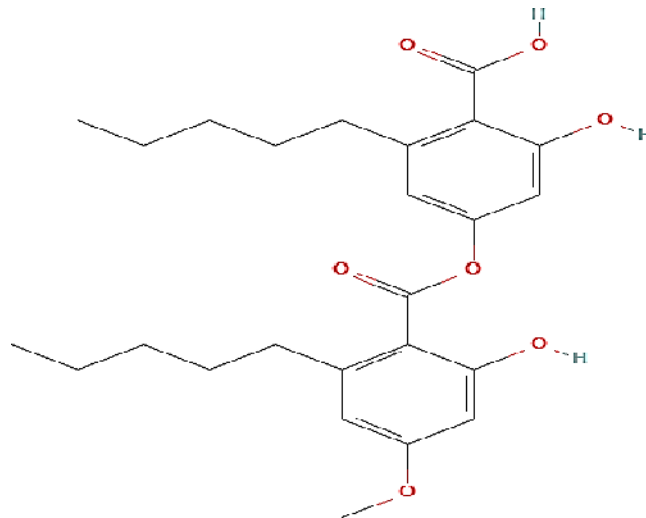


Figure 16 : la structure chimique de l'acide perlatolique (depside)

II.2.2.2 La voie de biosynthèse des depsides (acide perlatolique)

La voie des acétogenines (polyacétate) : C'est la même que celle des depsidones déjà illustrée. (Voir figure 17)

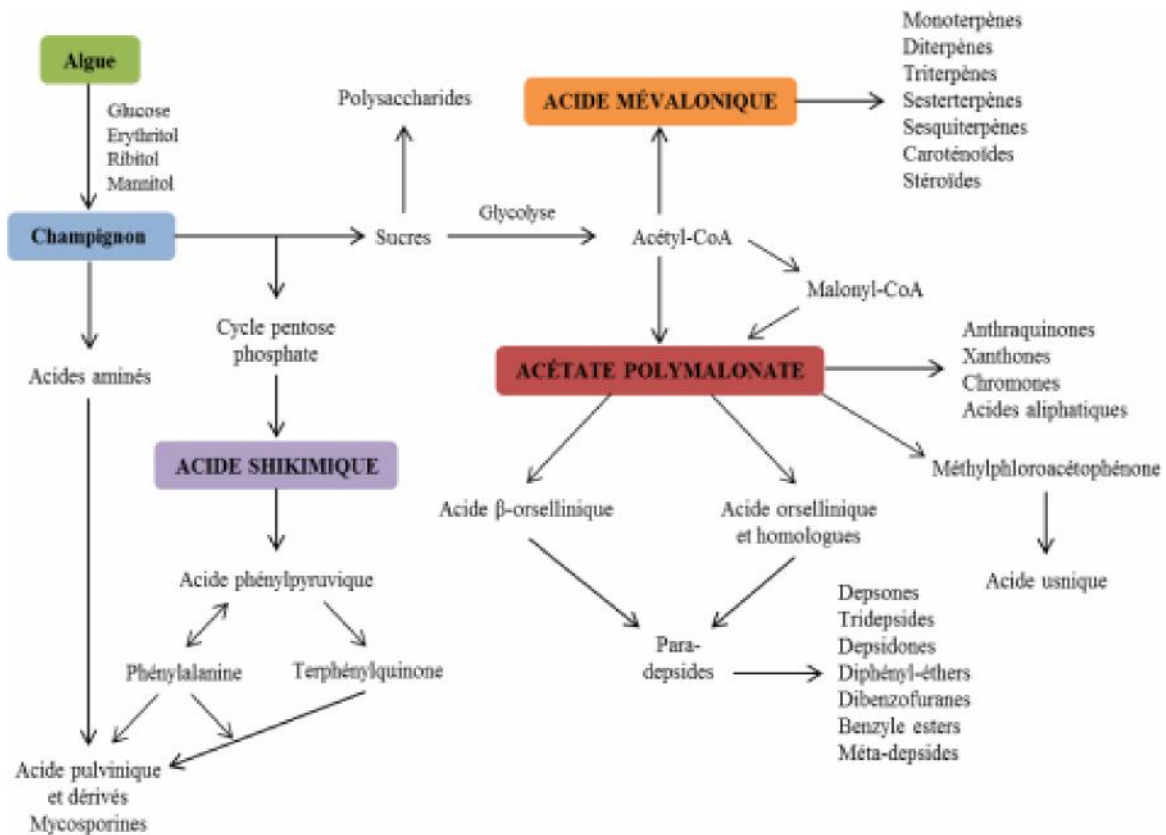


Figure 17 : les différentes voies de biosynthèse des métabolites lichéniques.

II.2.2.3 Localisation de l'acide perlatolique chez les lichens

L'acide perlatolique est généralement produit et stocké dans le thalle lichénique. Le thalle est la structure principale du lichen. Le thalle est composé de plusieurs couches de cellules, et l'acide perlatolique peut être présent dans diverses parties du thalle. (La source : **La revue de l'association française de lichénologie**)

II.2.2.4 Concentration de l'acide perlatolique

La concentration de l'acide perlatolique dans le thalle lichénique peut varier considérablement en fonction de plusieurs facteurs. Il n'existe pas de concentration fixe ou

standard de cet acide, car elle dépend de l'espèce de lichen, de son environnement, de son âge et de son état de santé.

Voici quelques facteurs qui influencent la concentration de l'acide perlatolique dans le thalle lichénique :

- . Espèce de lichen
- . Les conditions environnementales
- . Âge du lichen

(La source : **La revue de l'association française de lichénologie**)

II.2.2.5 Effets écologiques de l'acide perlatolique

L'acide perlatolique est un composé chimique produit par certains lichens, et bien que des informations spécifiques sur ses effets écologiques puissent être limitées en raison de sa rareté et de son étude moins répandue, on peut supposer qu'il pourrait avoir des effets écologiques similaires à d'autres métabolites produits par les lichens.

(La source : **La revue de l'association française de lichénologie**)

II.2.4 Effets des composés secondaires des lichens :

1. Effets antibactériens et antifongiques :

Les substances lichéniques (acide usnique) possèdent des propriétés antibactériennes et antifongiques. Il peut inhiber la croissance et la reproduction de bactéries ou de la germination des végétaux. Cette propriété est importante pour les lichens, car elle les protège contre les infections microbiennes et contribue à leur survie (**OZENDA et CLAUZADE, 1970**)

2. Protection contre les rayons UV :

Les lichens sont souvent exposés à une forte lumière solaire, y compris aux rayons ultraviolets (UV), qui peuvent endommager leurs cellules. Les anthraquinones peuvent agir comme un antioxydant, aidant ainsi à protéger les cellules des lichens contre les dommages causés par les UV, ou à l'opposé permettent de capter l'énergie solaire en conditions de faible luminosité (**DAHL, 2003**).

3. Réponses aux stress environnementaux :

Ils peuvent être produits en réponse à des stress environnementaux tels que la sécheresse, le froid ou la chaleur. Autrement dit, ils contribuent au maintien de l'équilibre hydrique du thalle en limitant l'évaporation de l'eau à sa surface et en contrôlent les voies de transfert à l'intérieur du thalle, (**VAN HALUWYN et LEROND, 1993**).

4. Sensibilité à la pollution atmosphérique :

Ils assurent l'homéostasie des métaux, et leurs tolérances à la pollution de l'air (**MOLNAR et FARKAS, 2010**).

Chapitre III

Matériels et méthodes

Matériels et méthodes :**III .1 Matériel végétale :**

Les récoltes des deux espèces lichéniques *Cladonia portentosa* et *Hypogymnia farinaceae* ont été effectuées dans la forêt de Mizrana qui est une zone collinéenne dépassant les 200 m d'altitude et un microclimat humide, en mois de mars 2023.

Les lichens sont séparés de leur substrat naturel à l'aide d'un couteau ou bien à la main, deux échantillons sont recueillis dans des sachets en papier, par la suite ils sont transportés au laboratoire et déposés soigneusement sur des feuilles de papier, à fin d'être séchés sans être détériorés.

III .1.2 Identification des échantillons lichéniques

L'identification de nos espèces lichéniques a été réalisée à l'aide d'une loupe binoculaire, par observation des caractères morphologiques, tel que le type du thalle, la couleur, la forme (KIRSCHBAUM et WIRTH, 1997).

Les critères de détermination précités, nous ont permis d'identifier deux espèces lichéniques : *Cladonia portentosa* et *Hypogymnia farinaceae*.

III.1.2.1 Approche de l'identification de *Cladonia portentosa***• Caractères morphologiques**

C'est un lichen terricole à thalle primaire crustacé très fugace et le plus souvent inexistant, et un thalle secondaire en petit buisson pouvant atteindre 10cm de hauteur et plus, formant de grands "coussins" avec ses voisins, formé de rameaux, parfois perforés aux aisselles, très ramifiées et se divisant de manière 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 ensoleillé (Voir figure 18).



Figure 18: *Cladonia portentosa* à thalle composite (Mizrana, 2023)



Figure 19: *Cladonia portentosa*, Mizrana, 2023.

III.1.2.2 Approche de l'identification de *Hypogymnia farinacea*

- **Caractères morphologiques :**

En utilisant la loupe binoculaire on peut reconnaître les caractères morphologiques caractérisant chaque espèce. (Voir la figure 20)



Figure 20 : thalle *Hypogymnia farinacea*. A : thalle saxicole frais, et B : thalle saxicole sec

III.1.2.3 Extraction des substances lichéniques

trois heures, nous avons introduit au fond du tube un peu de coton et le surnageant est transféré dans un autre tube en verre.

Deux extractions ont été faites sur les deux espèces récoltées :

- a) –L'extraction des composés majoritaires
 - Broyer les lichens à l'aide d'un mortier.
 - Peser 300 mg de poudre de chaque espèce.

- Introduire pour chaque espèce 300 mg de poudre de lichen dans des tubes à essais auxquels est rajoutés 10ml d'acétone, le mélange est laissé macérer au moins 3 heures en agitant de temps en temps.
- Disposer un morceau de coton à l'intérieur des tubes.
- Aspirer avec des pipettes pasteur l'extrait, en appliquant celle-ci contre le coton.
- Transvaser l'extrait dans un nouveau tube à essais.

b) –l'extraction des substances lichéniques

- L'extraction a été réalisée par macération : nous avons introduit pour chaque espèce 100mg de poudre de lichen dans des tubes à essais auxquels sont rajoutés 1ml d'acétone, le mélange est laissé macérer au moins 3 heures en agitant de temps en temps.
- Disposer à l'intérieur des tubes un morceau de coton.
- Aspirer l'extrait et le transvaser dans un tube.

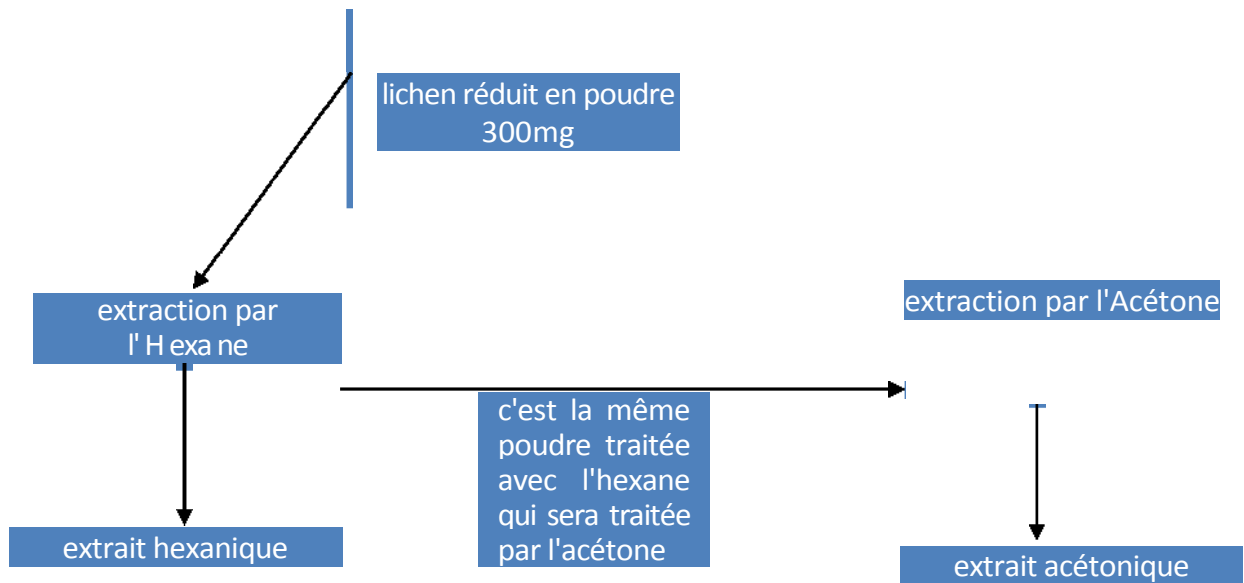


Figure 21 : Schéma des extractions successives sur *Cladonia portentosa* et *Hypogymnia farinaceae*.

III.2.3. Chromatographie

Cette technique a été réalisée avec les deux extraits des deux espèces lichéniques en utilisant comme profil chromatographique le gel de silice (responsable de phénomènes d'absorption et de partage) et c'est une phase polaire (**Burgot et Burgot 2002**).

a) Matériel nécessaire

- crayon à papier ;
- plaque de silice ;
- cuve où enceinte fermée ;
- solution pour mettre la solution de révélation ;
- micropipette ;
- éprouvette pour le mélange des solvants.

b) Préparation de la cuve de la chromatographie

Le système solvant = phase mobile

Nous avons utilisé deux types de solvants pour la préparation des deux phases mobiles des deux cuves chromatographiques :

- le premier solvant constitué de : 130 ml d'hexane, 80 ml de diethylether et 20 ml d'acide Formique ;
- le second est constitué de : 200 ml de toluène et de 30 ml d'acide acétique ;
- le révélateur de couleur utilisé est l'acide sulfurique.



Figure 22 : profil chromatographique plaque de chromatographie déjà préparée pour la mise en cuve.

Mots clés :

C. H : extrait des composés majoritaires apolaires de *Cladonia portentosa* avec comme solvant l'Hexane.

C. A : extrait des composés majoritaires polaire de *Cladonia portentosa* avec comme solvant l'Acétone.

H. H : Extrait des composés majoritaires apolaires d'*Hypogymnia farinaceae* avec comme solvant l'Hexane.

H.A : Extrait des composés majoritaires polaire d'*Hypogymnia farinaceae* avec comme solvant l'Acétone.

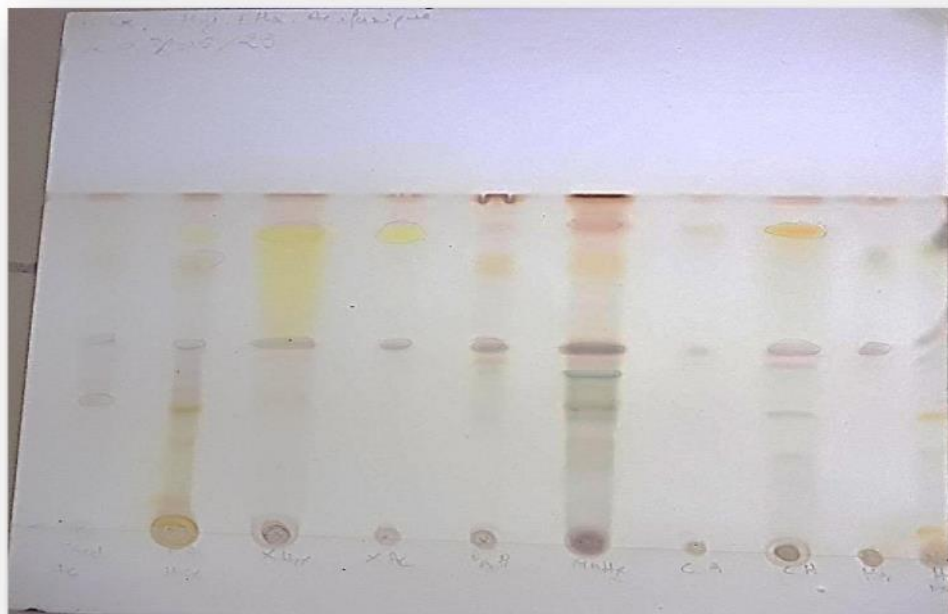


Figure 23 : profil chromatographique avec comme phase mobile (130ml d'Hexane, 20ml d'A. Formique, 80ml de Diethylether) et révélée avec H_2SO_4 à 10%.

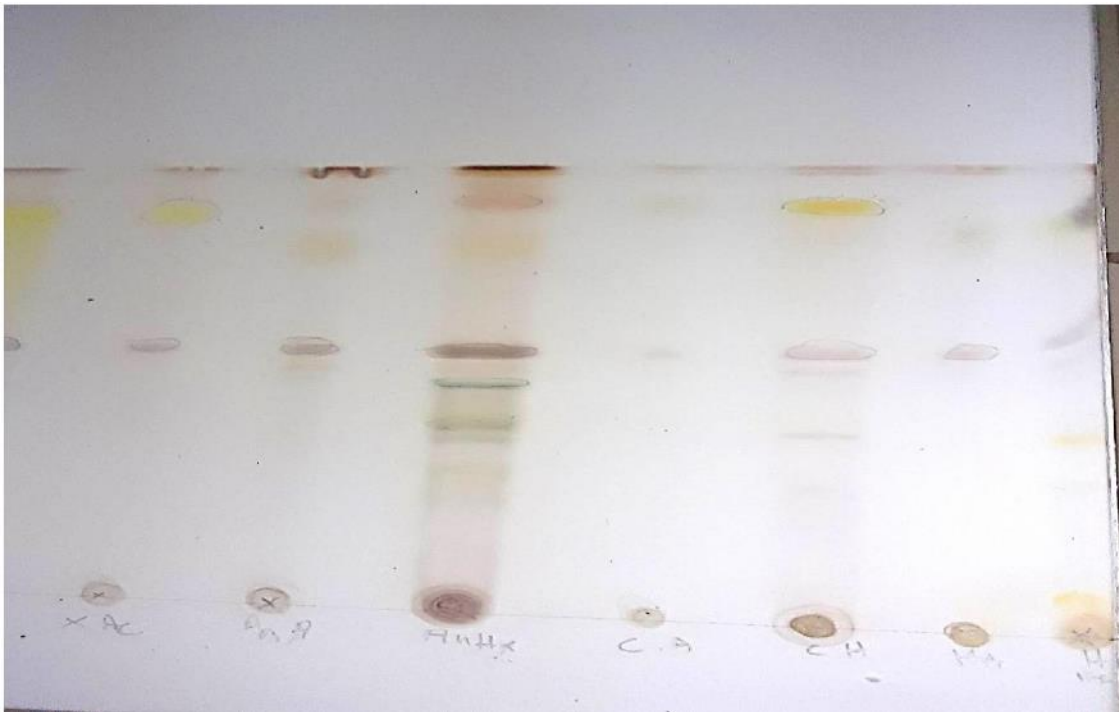


Figure 24 : Profil chromatographique de *Cladonia portentosa* et *Hypogymnia farinacea* avec comme phase mobile (130ml d'hexane, 20ml d'A. Formique, 80ml de diethylether) révélée avec H₂SO₄ à 10%.

c) Dépôt des échantillons

Les échantillons à séparer sont dissous dans un solvant volatil (afin qu'entre chaque dépôt le solvant ait pu s'évaporer ce qui donnera une tache de petite diamètre mais concentrée doit être environ de 1 mg/ml),

En effectuera ensuite 3-5 fois se dépôt sur la plaque stationnaire manuellement.

Puis en place la plaque de chromatographie échantillonnée dedans la cuve de chromatographie et attendre environ 40 minutes pour que les substances migrent, un fois ressorti de la cuve en sèche la plaque.

d) Utilisation d'un révélateur de couleur : qui est l'acide sulfurique H₂SO₄ à 10 %, un révélateur de couleur commun pour plusieurs substances. Il est administré sur toute la surface de la plaque de silice directement ressortit de la cuve et séchée, par pulvérisation

e) Fixation des couleurs sur la plaque

Pour fixer les couleurs des substances apparues sur la plaque de ces substances, en la met dans l'étuve pendant 10 – 15 minutes. Une fois ressorti elle sera prête pour l'identification.

f) Détection

La détection sera purement visuelle et sera dans un 1^{er} temps physique (se fait sous lumière visible), puis dans un 2^{ème} temps chimique (se fait de manière directe après pulvérisation d'un réactif capable de réagir avec les molécules séparées pour donner des substances colorées ou pas).

g) Calcul du Rf

$$Rf = L1 / L2$$

L1 : la distance parcourue par la substance.

L2 : la distance parcourue par le solvant.

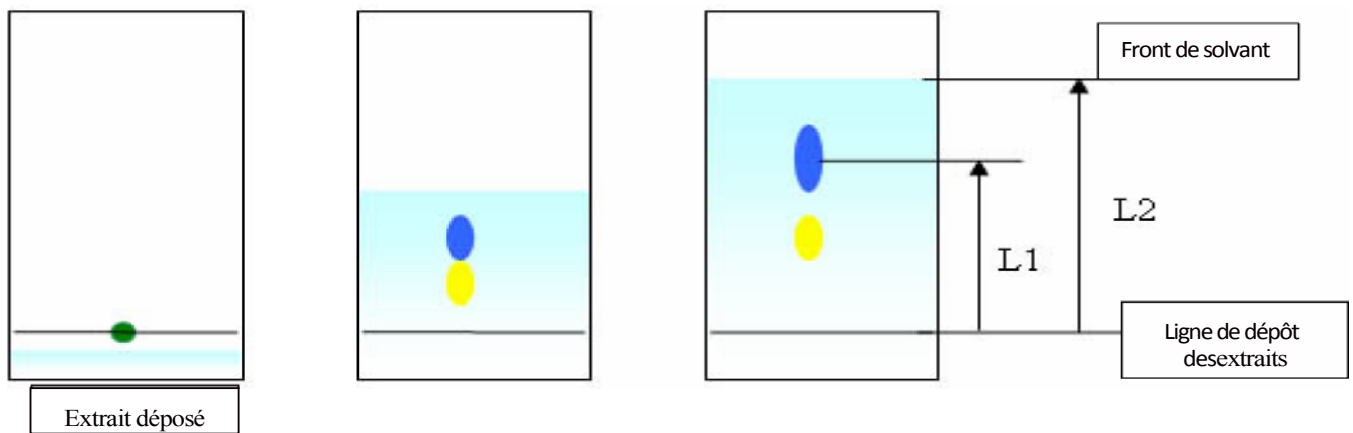


Figure 25 : principe de la CCM_ calcul du Rf Cet extrait contient deux composés

III.2.4 Microcristallisation

- Régler la plaque chauffante à environ 40⁰C-50⁰ C.
- Poser une lame et lamelle sur la plaque (un plan de travail).
- Déposer l'extrait lichénique goutte après goutte sur une lame
- Déposer sur le dépôt (extrait lichénique) les deux réactifs de cristallisation (GAW et GE).

Par le réactif H₂SO₄.

- Poser sur cette goutte délicatement sur la lamelle préalablement chauffée.

- Fixer avec de vernis à ongle transparent les quatre angles de la lamelle pour que le réactif cristallogène ne dépasse pas les bords de la lamelle, sécher pendant 5-10 minutes pour le GAW et 5-6 minutes pour le GE.
- Etiqueter chaque lame en indiquant le nom de l'espèce et le réactif utilisé.
- Observation de la lame au microscope optique équipé d'un système de lumière polarisée analysé, grossissement x 10, x 40 et puis x 100. Pour arriver à voir les

Chapitre IV

Interprétation des résultats

IV.1. Résultats de la chromatographie

Tableau I : résultats d'une CCM avec comme phase mobile (130ml d'hexane, 20ml d' A. Formique, 80ml de diethylether) révélée avec H₂SO₄ à 10%

Unité de mesure en (cm) de L1	Extraits lichéniques				L2
	Cladonia.P		Hypogymnia.F		
	Par acétone	Par hexane	Par acétone	Par hexane	
	10,1	10	9,3	9,5	11
Rfs des extraits	0,9 18	0,909	0,845	0,863	

Tableau 1 : valeurs des Rfs de l'espèce *Cladonia portentosa* et de *Hypogymnia farinaceae*.

Analyse et discussion :

D'après les résultats obtenus par la technique de chromatographie sur couche mince, nous constatons que :

Pour l'espèce *Cladonia portentosa* nous remarquons qu'elle possède qu'une substance dans son composé majoritaire visuellement, elle apparait une petite tache de couleur brun rouge dans l'extrait d'acétone, et une tache plus foncée de la même couleur (comme la couleur de rouille) dans l'extrait d'hexane ; et une substance lichénique dans l'extrait lichénique avec les même Rfs pour le solvant acétone et hexane.

Pour conclure, l'espèce *Cladonia portentosa* (à 200 m) a les mêmes Rfs, dans les deux extraits donc elle a une même substance dans les deux extraits. Qui est l'acide perlatolique.

La couleur brun rouge caractérise la classe chimique des depsidones et des depsides avec l'utilisation du réactif (S₂HO₄). Et d'après les recherches scientifiques, l'espèce *Cladonia portentosa* a l'acide perlatolique comme composant majoritaire, et ce dernier fait partie du groupe depsides.

Pour l'espèce *Hypogymnia farinaceae* nous remarquons aussi l'apparence que d'une tache très claire sur la plaque de silice, elle est de couleur brune dans l'extrait d'hexane et en revanche, elle apparait une tache pas très visible dans l'extrait d'acétone (de couleur pas très nette).

Comptent aux valeurs des deux rapports frontaux des deux extraits lichéniques (d'acétone et d'hexane) de cette espèce ils sont très proches.

Pour conclure, l'espèce *Hypogymnia farinaceae* puisque les deux Rfs des deux extraits sont très proches ; donc, ils représentent la même substance lichénique, qui est l'acide physodique.

Puisque, l'apparition de tache brune sur la plaque de silice avec l'utilisation du réactif (H_2SO_4) est un repaire pour les substances lichénique de classe depsides et depsidones, et d'après les connaissances bibliographiques, l'espèce *Hypogymnia farinaceae* a l'acide physodique comme composé majoritaire, et il fait partie des depsidones. Puisque on ne dispose pas de réactifs spécifiques pour identifier cette substance, ni de témoin de cette dernière.

IV.2. Résultats microcristallisation

- Résultats de la microcristallisation de l'acide perlatolique de l'espèce *Cladonia portentosa* traités par GAW et GE



figure 26 : Cristaux d'acide perlatolique (dans GAW) vue par microscope optique sans lumière polarisée au grossissement x 100.

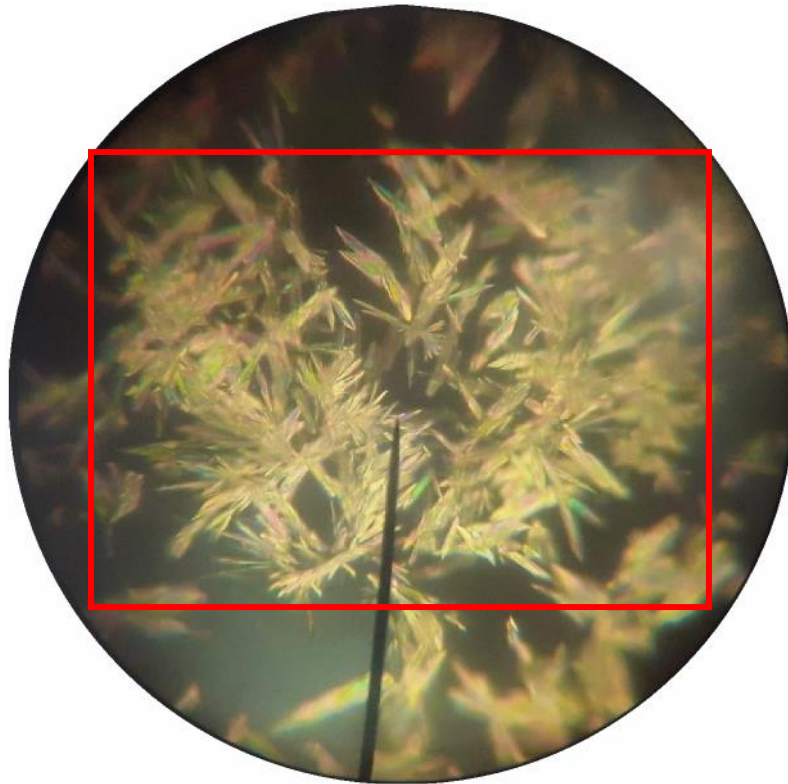


Figure 27 : Acide perlatolique (dans GAW) vue au microscope optique au grossissement x100.

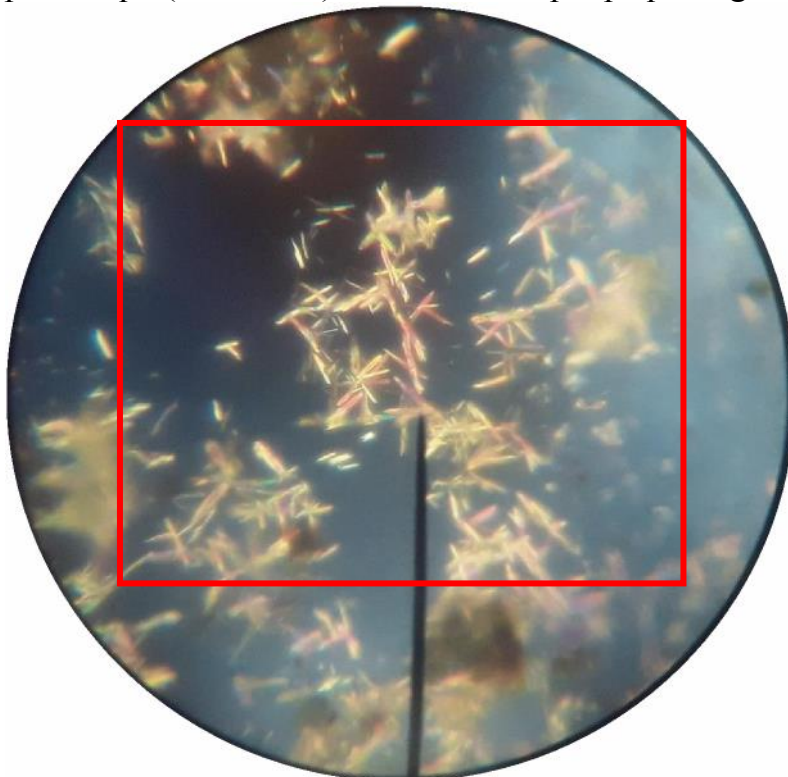


Figure 28 : Acide perlatolique (dans GE) vue sous le microscope optique à lumière polarisée au grossissement x100, (extrait de *Cladonia portentosa*)

Remarques sur la microcristallisation de l'acide perlatolique de l'espèce *Hypogymnia farinaceae*

En remarque que le réactif cristallogène GAW donne une meilleure cristallisation a l'acide perlatolique en le comparant au réactif GE. (Voir la figure 29)

En voie, la formation d'aiguilles très droite, contrastés par le doré et le rose cas du réactif GE;

Dans le cas du réactif GAW, les cristaux de l'acide perlatolique se présentent en forme d'aiguilles qui s'entrecroisent en angles droits en lumière polarisée et analysée, de couleur dorée



Figure 29 : Lame contenant l'échantillon d'*Hypogymnia farinaceae* (acide physodique)

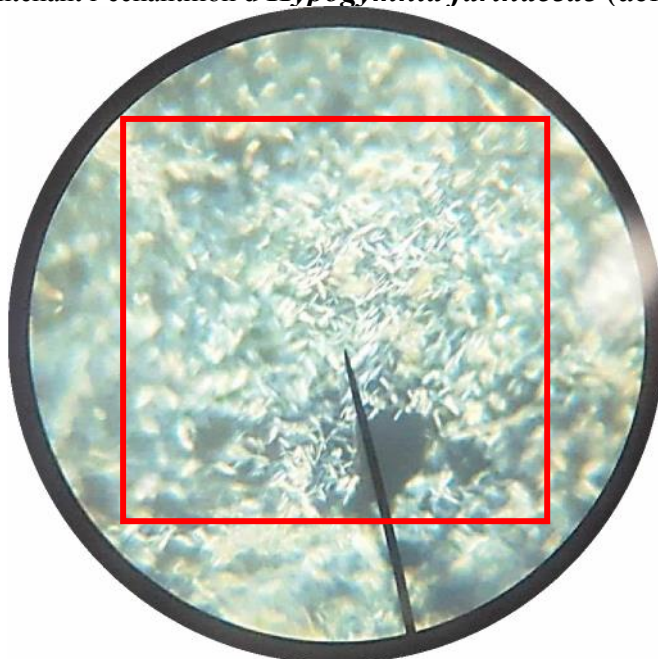


Figure 30 : Image de la microcristallisation de l'acide physodique traité par GAW appartenant à l'espèce *Hypogymnia farinaceae* sous microscope optique polarisé et analysé au grossissement X 100

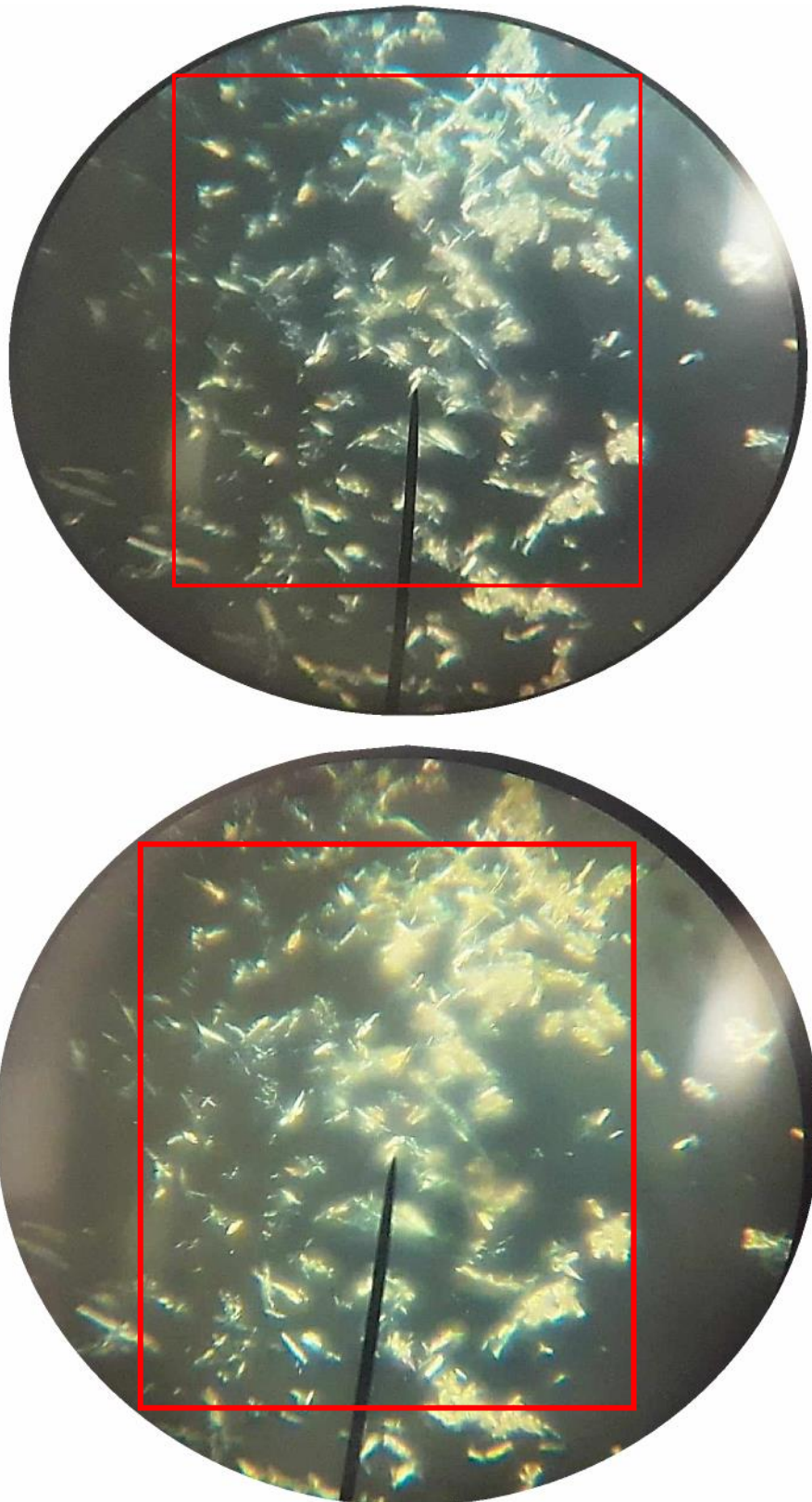


figure 31 : Image de microcristallisation de l'acide physodinique extrait depuis l'espèce *Hypogymnia farinaceae* par GE, vue sous microscope optique polarisé et analysé, au grossissement x 100.

Remarques sur les résultats de microcristallisation de l'acide physodique extrait depuis l'espèce *Hypogymnia farinacea* :

En comparant la netteté des deux captures 6, on peut dire que le réactif GAW est meilleur que GE dans ce genre de substances.

Les cristaux d'acide physodique apparaissent de forme de bâtonnets dispersés sur l'image. Elle est contrastée en doré pour le réactif GE et en GAW il reflète un contraste en blanc.

Conclusion

Conclusion

Cette étude nous a permis l'identification par deux approches différentes la chromatographie sur couche mince et la microcristallisation de deux substances lichéniques appartenant l'une à une espèce terricole *Cladonia portentosa* et l'autre à une espèce corticole *Hypogymnia farinaceae*, il s'agit respectivement de l'acide perlatolique et l'acide physodique.

L'acide perlatolique est un depside dérivant de la voie polyacétate, et l'acide physodique qui est un depsidone issue de la même voie de biosynthèse que l'acide perlatolique.

Par manque de témoin, nous nous pouvons affirmer qu'il s'agit bien de ces deux substances.

Le réactif cristallogène GAW et GE ont montré la présence des deux acides perlatolique et physodique, respectivement aux seins de l'espèce *Cladonia portentosa* et *Hypogymnia farinaceae* récolté a 200 m en 2023.

En perspectives de recherche, il serait intéressant de poursuivre cette étude sur d'autres espèces récoltées dans différentes saisons et altitudes en vue d'une étude chimiotaxonomique et également de valoriser ces substances en vue de bonne utilisation comme biopesticides.

Références

- 1) **Advocat A. (2009).** Etude de l'espèce *Usnea Cornuta*. Ed. le naturaliste. p 02
- 2) **Agnello G. (2012).** la lichenologie. p05.
- 3) **Archer. AW., Aelix. A., Calanasan., C A. (1991),** subpicrolichenic and superpicrolichenic acids; two depsones of *Pertusaria* lichens. Australian journal of chemistry. p 44.
- 4) **Bauwens A. (2003).** Les lichens et la qualité de l'air. Scienceinfuse, pp 01-20.
- 5) **Bezenger et Beauquense. B L. (1980).** Lichens : *Contraria Islandica* (lichen d'Islande).Ed. moloine S A, Paris, pp 18-19.
- 6) **Béguinot J. (2010).** Les lichens. Concuérants écologiques de l'impossible, société de l'histoire naturelle du creusot, p 01.
- 7) **Bernard L. (2011).** les lichens. association francaise de lichenologie, pp 19.
- 8) **Bodo B. (2006).** *L'acide bourgéanique : nouveau métabolite des lichens : Structure, synthèse et biosynthèse.* l'Université Pierre et Marie Curie, Paris VI
- 9) **Bouchet PH. (1979).** Abrégé de cryptogamie, édition Masson, pp 28-32.
- 10) **Bricaud D. (2009).** Les lichens et la végétation lichenique du parc national de la guadeloupe. Ed AFL.
- 11) **Bruneton, P. (1999).** Pharmagnosie. phytochimie. plantes médicinales. 3e édition, Édition Médicales Internationales Cachan . In : Dahl W. (2003). Contribution à l'étude des métabolites secondaires chez les lichens fruticuleux *Cladina Stellaris* et *Cladina Rangiferina*. Mémoire présenté à l'université du Quebec à Chicoutimi. Ed Uqac. P 13
- 12) **Clauzade G., Coste C. (1989).** Initiation à l'étude des lichens. Coordination mycologique de Midi et Pyrénées.24.pp 47.
- 13) **Coste C. (2008).** Introduction à l'étude des lichens. Ed Castre.pp 03-07.
- 14) **Coste C. (2009).** Inventaire mrémilinaire des lichens et des communautés licheniques de la réserve naturelle des Gorges du Gardon. Bulletin de la société d'étude des sciences naturelles de Nimes et du Gard. pp 34-37.
- 15) **Cressier D. (2010).** Synthèse et Evaluation de Nouveaux Dérivés Organiques et Organométalliques Contre les Effets des Rayonnements Ionisants. l'Université Toulouse III - Paul Sabatier. P 131-132-125

- 16) **Culberson C. F., Ahmadjian, V.; (1980).** Artificial reestablishment of the lichens.
- 17) **Culberson C.F., Elix, J. A. (1989).** Lichens Substances. *Methods in Plant Biochemistry*, 1, 309-535. In Dahl W. (2003). Contribution à l'étude des métabolites secondaires chez les lichens fruticuleux *Cladina Stellaris* et *Cladina Rangiferina*. Mémoire présenté à l'université du Quebec à Chicoutimi. Ed Uqac. P 13
- 18) **Dahl W. (2003).** Contribution à l'étude des métabolites secondaires chez les lichens fruticuleux *Cladina Stellaris* et *Cladina Rangiferina*. Mémoire présenté à l'université du Quebec à Chicoutimi. Ed Uqac. P 34.
- 19) **Daillant O. (2003).** Lichens et accumulation des métaux lourds. Bulletin de l'association française de lichenologie .p02.
- 20) **Des Abbayes H. (1963).** Les lichens .Botanique générale .Ed Massonet Cie. P 14.
- 21) **Des Abbayes H. (2012).** Lichens. Ecologie et application. Faculté de science de Rennes. P 06.
- 22) **Deysson G., Delcovert., A. (1980).** Mycologie générale et appliquée. 2 eme edition revu et augmenté, 1980, pp 377-379.
- 23) **Elix, J. A. (1984).** Recent progress in the chemistry of the lichen substances. In Dahl W. (2003). Contribution à l'étude des métabolites secondaires chez les lichens fruticuleux *Cladina Stellaris* et *Cladina Rangiferina*. Mémoire présenté à l'université du Quebec à Chicoutimi. Ed Uqac. P 22
- 24) **Gavériaux JP (2010).** Les champs lichénisés de France. Ed AFL. P 22.
- 25) **Goujon G (2004).** Lichens et biosurveillance de la qualité de l'air. Connaître pour agir. Ed Arehn. Pp 02-04.
- 26) **Gregory G., Beth Dimijian M. (2004).** Les lichens et la qualité de l'air. Scienceinfuse. Ed UCL. P 10.
- 27) **Habrant D. (2008).** Synthèse et caractérisation de nouveaux antioxydants, dérivés mono aromatiques d'acides pulviniques, pour des applications endermo-cosmétiques. Université Louis Pasteur UMR. P 59.
- 28) **Honegger R. (1986).** Ultrastructural studies in Lichens. *Newphytol* .103.797-808 .
- 29) **Hunck S. (1999).** L'importance des lichens et leurs métabolites. Soutien de recherche. Etats Unis. Gouv. p86.
- 30) **Hartwel (1971).** Les plantes utilisées contre le cancer. *Llyodia*, 34 (4) :414-416.
- 31) **Herzig R., Urech M. (1991).** Fichten alobio indikatoren, in Scheidegger C., Clerc P., Dietrich M., Frei M., Groner U., Keller C., Roth, Stofer S., Vust M.

Résumé

Depuis ses premiers fondements la création, de la lichénologie attire la curiosité de nombreux chercheurs grâce à la valorisation de ses composés à différents effets biologiques. Notre étude a porté sur l'identification et l'isolation l'acide physodique qui à l'origine a été isolé pour la première fois à partir du lichen *Physcia Tenella*, d'où son nom. Ce composé, est retrouve bien chez *Hypogymnia farinaceae*. Quant à l'acide perlatolique se trouve chez *Cladonia portentosa*, mais les connaissances bibliographiques sont en cours d'élaboration concernant les deux substances étudiées.

Nous avons fait l'isolation et l'identification de ces composés grâce à deux techniques, la chromatographie sur couche mince et la microcristallisation à partir de deux espèces corticoles *Hypogymnia farinaceae* et une espèce terricole *Cladonia portentosa*.

Mots clés : Lichens ; Acide physodique ; acide perlatolique ; *Cladonia portentosa* ; *Hypogymnia farinaceae*.

Abstract

Since its first foundations, lichenology has attracted the curiosity of many researchers thanks to the valorization of its compounds with different biological effects.

Our study focused on the identification and isolation of physodic acid which was originally isolated for the first time from the lichen *Physcia Tenella*, hence its name. This compound is found in *Hypogymnia farinaceae*. As for perlatolic acid, it is indeed found in *Cladonia portentosa*, but bibliographical knowledge is currently being developed concerning the two substances studied.

Our study focused on the isolation and identification of these compounds using two techniques, thin layer chromatography and microcrystallisation from two corticole species *Hypogymnia farinaceae* and a land species *Cladonia portentosa*.

Keywords: Lichens; Physodic acid; perlatolic acid; *Cladonia portosa*; *Hypogymnia farinaceae*.