

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et
de la Recherche Scientifique**

Université Mouloud MAMMARI de Tizi-Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques et des sciences Agronomiques

Département de Biologie



Mémoire

de Fin d'études

En vue de l'Obtention du diplôme
de MASTER en Biologie Spécialité :
Spécialité : *Biologie de la conservation*

**Extraction et essai d'identification de
Substances lichéniques à partir d'un
Lichen terricole *Cladonia foliacea*.**

Présenté par :

- **CHEBALLAH Ouahiba**
- **GASMI Hassane**

Soutenu devant le jury :

Présidente : M^{me} AOUAR. M

Promotrice : M^{me} SAHMOUNE.F

Examineur : M^{me} TALEB.K

M.C.A.UMMTO

M.A .CA.UMMTO

M.C.A.UMMTO

Promotion : 2018/2019

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

M^{me} SAHMOUNE.F

Pour ses conseils et sa disponibilité lors de l'élaboration de ce mémoire de fin d'études.

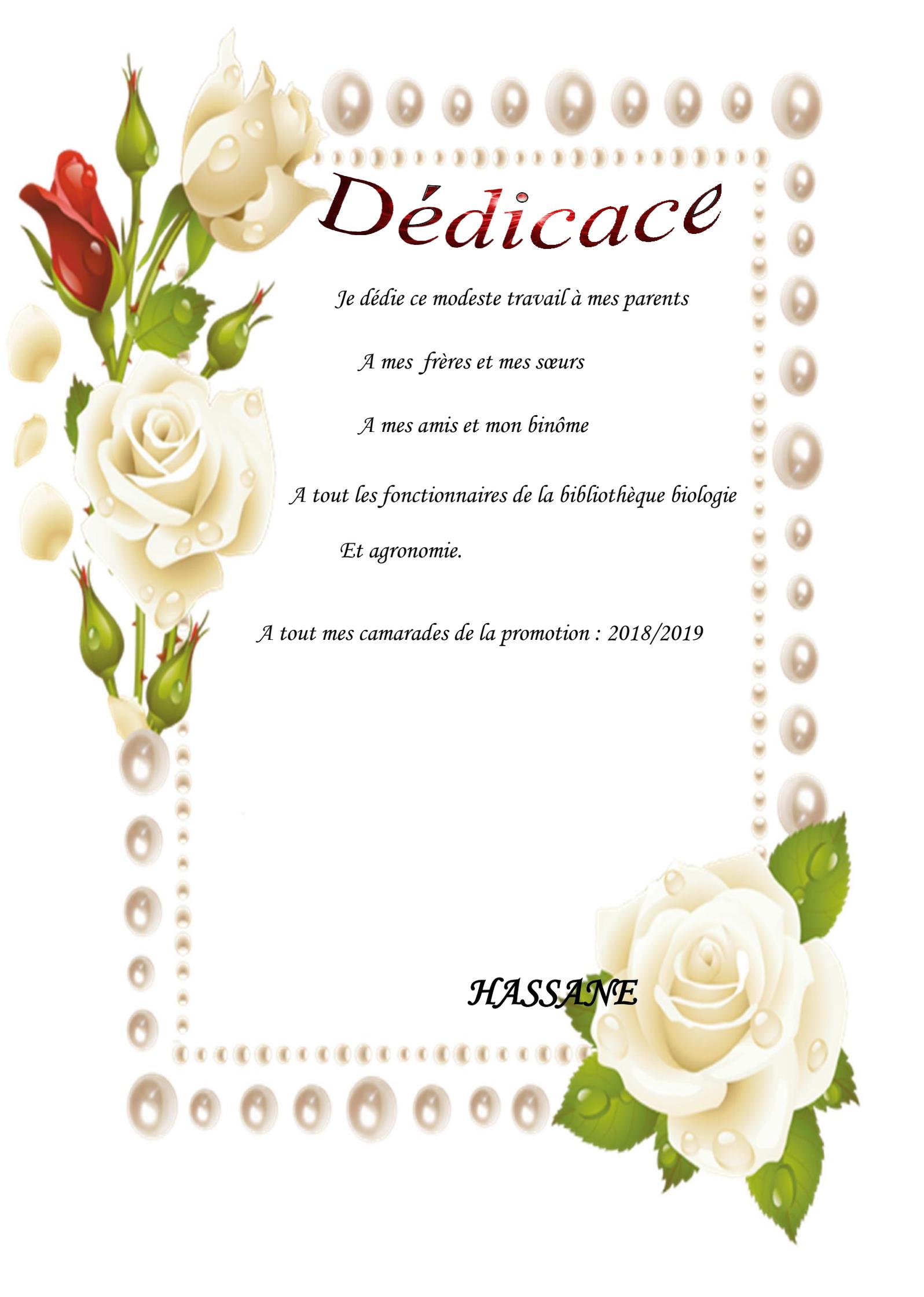
Nos remerciements les plus sincères s'adressent aux membres du jury ; à D'avoir accepté de présider ce jury M^m AOUAR.M et TALEB.K, a de nous avoir fait l'honneur d'examiner ce travail et de l'enrichir par leurs critiques constructives.

Nous remercions chaque personne ayant contribué à la réalisation de notre travail : M^r KELOUCHE

Ainsi que l'ingénieur de l'laboratoire entomologie pour leurs aides.

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.

A decorative border composed of a double line of pearls, with a cluster of roses on the left and a single large rose on the bottom right. The roses are in various stages of bloom, including a red one and several white ones with water droplets.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes parents

A mes frères et mes sœurs

A mes amis et mon binôme

A tout les fonctionnaires de la bibliothèque biologie

Et agronomie.

A tout mes camarades de la promotion : 2018/2019

HASSANE

A decorative border of pearls and roses surrounds the text. The top and right sides feature a row of large pearls, while the left and bottom sides feature a row of smaller pearls. On the left side, there is a vertical arrangement of roses, including a red one and several white ones with water droplets. On the bottom right, there is a large white rose with green leaves and water droplets.

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, écolle 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 sœurs que j'aime
beaucoup lamia, Sara et kamilia.*

*A mon très cher frère mehdi,
massinissa.*

A mon oncle yazid et tata chahia.

A mes amis et mon binôme

Je dédie ce travail.

ouahiba

Liste des figures

Figure 01 : Les différents types de thalles

Figure 02 : Structure homéomère coupe transversale du thalle (VAN HALUWYN et LEROND, 1993).

Figure 03 : Structure hétéromère stratifiée coupe transversale du thalle (VAN HALUWYN et LEROND, 1993).

Figure 04 : Structure hétéromère radiée coupe transversale du thalle (VAN HALUWYN et LEROND, 1993).

Figure 05 : Biogenèse des substances lichéniques (VAN HALUWYN et LEROND, 1993).

Figure 06 : La structure de l'acide usnique.

Figure 07 : Structure de l'acide fumaprotocétrarique possédant l'activité anti herbivore.

Figure 08 : Le site de récolte de l'espèce *Cladonia foliacea*.

Figure 09: Espèce *Cladonia foliacea* observe a l'œil nu.

Figure 10 : Espèce *Cladonia foliacea* observée a la loupe (Laboratoire d'entomologie. 2019).

Figure 11 : Thalle broyé de *Cladonia foliacea*.

Figure 12 : Les lamelles préparées avec les deux réactif GAW et GE

Figure 13 : Préparation de la cuve de la chromatographie

Figure 14 : Profils chromatographique avec comme phase mobile (130ml d'hexane, 20 ml d'acide formique et 80ml de Diethylether).

Figure 15 : Les substances lichéniques de l'extrait lichénique observées au microscope en lumière polarisé chez *Cladonia foliacea* dans les deux milieux de cristallisation (GAW et GE).

Figure 16 : Les substances lichéniques de composé majoritaire observées au microscope en lumière polarisé chez *Cladonia foliacea* dans les deux milieux de cristallisation (GAW et GE).

Figure 17 : Les substances lichéniques de l'extrait hexanotique observées au microscope en lumière polarisé chez *Cladonia foliacea* dans les deux milieux de cristallisation (GAW et GE).

Figure18: les substances lichéniques de l'extrait acétonique observées au microscope en lumière polarisé chez *Evernia prunastri*.

Liste des figures

Figure 19 : Profils chromatographique avec comme phase mobile (130ml d'hexane, 20 ml d'acide formique et 80ml de Diethylether).

Liste des tableaux

Tableau 01: Caractéristiques essentielles par rapport aux autres végétaux (DERUELLE &LALLEMANT, 1983).

Tableau 02 : Classification de *Cladonia foliacea* (Hoffm, 1996).

Sommaire

Introduction	01
Chapitre I : Généralité sur les lichens	
I-1-Définition des lichens.....	02
I-2-Biologie des lichens.....	02
I-3-La définition de la symbios.....	03
I-4-Les constituants des lichen.....	03
I-5-Morphologie du thalle.....	03
I-6-Les différents types de thalles.....	03
a)Les thalles fruticuleux.....	04
b) Les thalles foliacés.....	04
c)Thalles squamuleux.....	04
d) Les thalles crustacés	04
e) Les thalles gélatineux.....	04
f) Les thalles complexes ou composites.....	04
I-7-Anatomie des thalles.....	06
a) Structure homéomère.....	06
b) Structure hétéromère.....	07
c) Structure stratifiée.....	07
e) Structures radiées.....	08
f) Structure filamenteuse.....	09
I-8-Classification des lichens.....	09
a)-Les ascolichens.....	09
b)-Les basidiolichens	09

Sommaire

d)-Les hypolichens.....	09
I-9-Ecologie des lichens.....	09
I-9-1-Répartition géographique.....	09
I-9-2-Les facteurs écologiques de répartitions.....	09
I-9-2-1-Les facteurs substratiques.....	10
I-9-2-2-Les facteurs climatiques.....	10
I-9-2-3-Les facteurs biologique.....	10
I-10-Reproduction des lichens.....	11
I-11-Usage alimentaires.....	12
I-11-1-Dans l'alimentation humaine.....	12
I-11-2-Dans l'alimentation des animaux.....	12
I-11-3-Usages médicaux.....	13
I-11-4-Usage industriels.....	13
I-11-5-Parfums.....	13
Chapitre II : biochimie des lichens	
II-Biochimie des lichens.....	14
II-1-Les échanges chimiques de substances chimiques entre les associés.....	14
II-2-Substances fournies par le photosymbiote.....	14
II-2-1-Substances carbonées.....	14
II-2-2-Substances azotées.....	14
II-3-Substances fournies par le mycosymbiote.....	14
II-4-Spécialisations biochimiques.....	15
II-5-La biosynthèse des substances lichéniques.....	15

Sommaire

II-5-1-La voie acétatyl-polymalonyle.....	15
II-5-1-1-Les depesides.....	15
II-5-1-2-Les dépsidones.....	15
II-5-2-La voie mévalonate.....	16
II-5-3-La voie de l'acide shikimique.....	16
II-6-Localisation des substances lichéniques.....	16
II-7-Importance des substances lichéniques.....	17
II-7-1-Hydrophobie.....	17
II-7-2-Propriétés chélatantes.....	17
II-7-3-Propriétés antibiotique.....	18
II-7-4-Propriétés anti herbivores.....	18
Chapitre III : Matériel et méthode	
III-Matériel.....	20
III-1-Présentation des sites de récolte et du matériel végétal.....	20
III-2-Approche d'identification de l'espèce lichénique.....	20
III-2-1-Identification de l'espèce.....	20
III-2-2-Classification de Cladonia foliacea (Hoffm,1996).....	22
III-3-Méthode	22
III-3-1-Extraction des substances lichénique.....	22
III-4-Identification des composés lichénique par la microcristallisation.....	23
III-4-1-Réactifs cristallogènes.....	23
III-5-Méthodologie.....	24
III-6-Chromatographie.....	25
III-6-1-La description de la technique.....	25

Sommaire

Chapitre IV: interprétation des résultats

IV-1-Résultat de la chromatographie27

IV-2-Résultat de la microcristallisation.....28

IV-6-Discussion.....30

Conclusion.....31

Introduction

Les lichens résultent de la symbiose d'une algue verte ou d'une cyanobactérie avec un champignon essentiellement un ascomycète. L'algue verte, grâce à la chlorophylle, produit par photosynthèse des polyols qu'elle cède au champignon. Ce dernier, en retourne fournit de l'eau et des sels minéraux à l'algue ou à la cyanobactérie.

Le champignon lichénisé (mycosymbiote), sous l'impulsion de l'algue ou de cyanobactérie (photosymbiote) synthétise des substances appelées substances lichéniques dont la synthèse est réalisée essentiellement à partir de l'acetyl COA, lequel, est le produit de dégradation de l'acide pyruvique provenant de la glycolyse (VAN HALUWYN et LEROND, 1993). L'identification de ces substances lichéniques ou métabolites secondaires selon la morphologie des cristaux qu'elles forment représente l'une des premières méthodes pour identifier les molécules produites par le lichen. Cette approche développée par Asahina repose sur les cristallisations d'extraits lichéniques dans des systèmes de solvants particuliers.

C'est dans ce contexte que nous proposons d'extraire et d'identifier les substances lichéniques issues d'un lichen terricole *Cladonia foliaceae*.

Nous nous sommes intéressés, particulièrement à une famille moléculaire, les depsidones caractéristiques de cette espèce. A titre comparatif, nous avons utilisé deux autres espèces lichéniques corticoles *Evernia prunastri* et *Parmelia acetabulum*.

Notre travail est scindé en deux parties et chaque partie est subdivisée en chapitres.

La première partie est bibliographique qui est une synthèse sur les théories en rapport avec le sujet de notre étude, elle contient donc deux chapitres :

Chapitre I : porté sur des généralités sur les lichens.

Chapitre II : porté sur la biochimie des lichens.

La deuxième partie est expérimentale et méthodologique, contient deux chapitres :

Chapitre III : représente l'approche méthodologique (Materiels et méthodes)

Chapitre IV : représente les résultats obtenus et leurs discussions.

Enfin nous terminerons par une conclusion générale avec des perspectives de recherche .

I-1-Définition

Un lichen est une association symbiotique stable et indépendante, entre un mycosymbiote (l'associé champignon) et un photosymbiote (l'associé algue), dans laquelle le mycosymbiote est le partenaire englobant l'autre (TIEVANT, 2001).

Les lichens font partie des thallophytes, vaste ensemble de végétaux dépourvus de tige, feuilles et racines, et qui ne sont pas vascularisés (VAN HALUWYN et LEROND, 1993).

I-2-Biologie des lichens

Les lichens sont humides après une averse et sèchent ensuite avec leur substrat. Comme les algues ont besoin d'eau pour réaliser la photosynthèse, ils ne sont actifs qu'à l'état humide. A l'état sec, ils sont dans une sorte de dormance, en attendant la prochaine pluie. La capacité de revitalisation des lichens a deux conséquences : n'étant actifs qu'humides, les lichens ne croissent donc pas en permanence. Par rapport aux plantes à fleurs, « actives » nuit et jour, les lichens ont donc un déficit de compétitivité quant à la vitesse de croissance, par contre leurs capacités de reviviscence leur permettent de survivre à des conditions de sécheresse que ne peuvent supporter les plantes à fleurs (tableau 01) (VUST, et al.2015).

Tableau 01: caractéristiques essentielles des lichens comparé aux autres végétaux (DERUELLE & LALLEMANT, 1983).

Végétaux	Lichens
L'eau et les sels minéraux sont puisés dans le sol	L'eau et les minéraux proviennent exclusivement de l'air et de l'eau de pluie.
Feuilles recouvertes d'une cuticule protectrice et imperméable.	Pas de cuticule, contact direct avec l'atmosphère.
Pas d'activité hivernale	Actif toute l'année après la pluie
Stomates	Absence de système de régulation
Reproduction par graines protégées d'une enveloppe	Reproduction par des structures aérienne en contact direct avec les polluants de l'air
Croissance rapide	Croissance lente

I-3-Définition de la symbiose :

Le terme de symbiose emprunté au grec « symbiosis » signifie : vie ensemble.

Ce terme a été créé par le botaniste allemand de Bary en 1879 pour caractériser l'association entre l'algue et le champignon dans l'organisme des lichens. La symbiose concerne des organismes vivant ensemble en associations mutualisme ou commensale ou même antagoniste. La symbiose mutualiste implique la notion de profits plus ou moins structurés pour les partenaires, avec établissement de relations réciproque (VAN HALUWYN et LEROND, 1993).

I-4-Les constituants des lichens

I-4-1-Le mycosymbiote

Le champignon lichénisant est hétérotrophe, 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.

I-4-2-Le photosymbiote

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

I-5- Morphologie du thalle

Les lichens sont inclus dans les thallophytes, vaste ensemble de végétaux dépourvus de tige, feuilles et racines et qui ne sont donc pas vascularisés.

Leur thalle ou appareil végétatif présente une morphologie originale par rapport à celle des algues et des champignons qui le composent.

Le thalle est l'appareil végétatif du lichen : il assure la nutrition, et la croissance. Comme chez tous les végétaux constituant l'ensemble des thallophytes, il ne comporte pas de système vasculaire, c'est-à-dire de réseau de vaisseaux conducteurs (TIEVANT, 2001)

Le thalle de lichen présente une morphologie spécifique, différente de celle des algues et des champignons libres.

La forme de thalle du lichen et les différents organes dont il est porteur, sont d'une grande diversité.

I-6- Les différents types de thalles

Il existe six types de thalles :

-Crustacés, squamuleux, foliacés, fruticuleux, complexes ou composites et gélatineux (VAN HALUWYN et LEROND, 1993).

a) Les thalles fruticuleux

Ce sont des thalles en lanières plates, qui peuvent être divisées et cannelées ou en tige, simples ou plus ou moins ramifiées, de section ronde ou plate par exemple :

Ramalina pollinaria (fig.1.a) (TIEVANT, 2001).

b) Les thalles 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 (adhérent au support par une surface réduite à peu près centrale), les autres non ombiliqués (adhérent au support par la plus grande partie de leur surface) par exemple :

Hypogymnia physodes (fig.1.b).

c) Thalles squamuleux

Ils sont constitués de petites squamules ou écailles, de plus de 1.5 mm, serrées les unes contre les autres, contigües, plus ou moins imbriquées ou même superposées, convexes, concaves et fixées sur le substrat par exemple : *Normandina pulchella* (fig.1.c) (TIEVANT, 2001).

d) Les thalles crustacés :

Les thalles crustacés sont plus ou moins continus, ayant l'aspect de « croute », souvent fendillés. Ils peuvent être lobés au pourtour. Ils sont fendillés quand les fissures sont fines, irrégulières ou superficielles.

Au contraire, quand les fentes dans le thalle sont suffisamment profondes, elles forment un réseau de petits compartiments de tailles variées par exemple : *Rhizocarpon epispilum* (fig.1.d) (TIEVANT, 2001).

e) Les thalles gélatineux

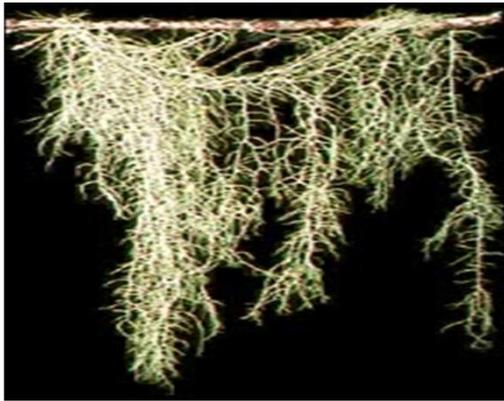
Ce sont des thalles à Cyanophytes (algue bleues), leur aspect varie selon l'humidité (fig.1.e) (TIEVANT, 2001).

f) Les thalles complexes ou composites

Thalle formé de deux parties bien distinctes :

-Thalle primaire plus ou moins adhérent au substrat, crustacé, squamuleux, plus ou moins foliacé.

-Thalle secondaire fruticuleux et dressé développé secondairement sur le thalle primaire par exemple : *Cladonia cristatella* (fig.1.f).



(a) : thalle fruticuleux



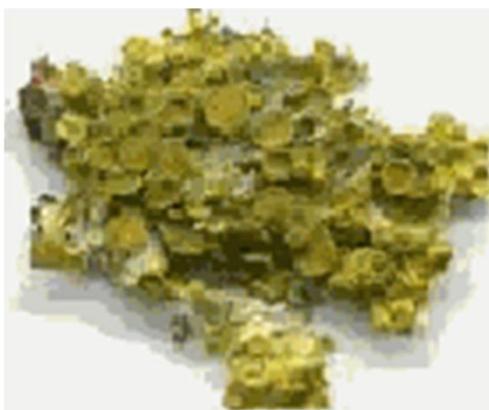
(b) : thalle foliacé



(c) : thalle squamuleux



(d) : thalle crustacé



(e) : thalle gélatineux



(f) : thalle complexe

Figure 01 : les différents types de thalles

I-7- Anatomie des thalles

Selon Asta (1994), ce sont les hyphes qui sont à l'origine de la morphologie du thalle. Elle occupe 90 % de la biomasse totale du lichen. Du point de vue structure anatomique, le thalle présent deux structures bien distinctes (TIEVANT, 2001).

a)-Structure homéomère

Les cellules algales et les hyphes sont mêlés et reparties dans toute l'épaisseur du thalle (TIEVANT, 2001).

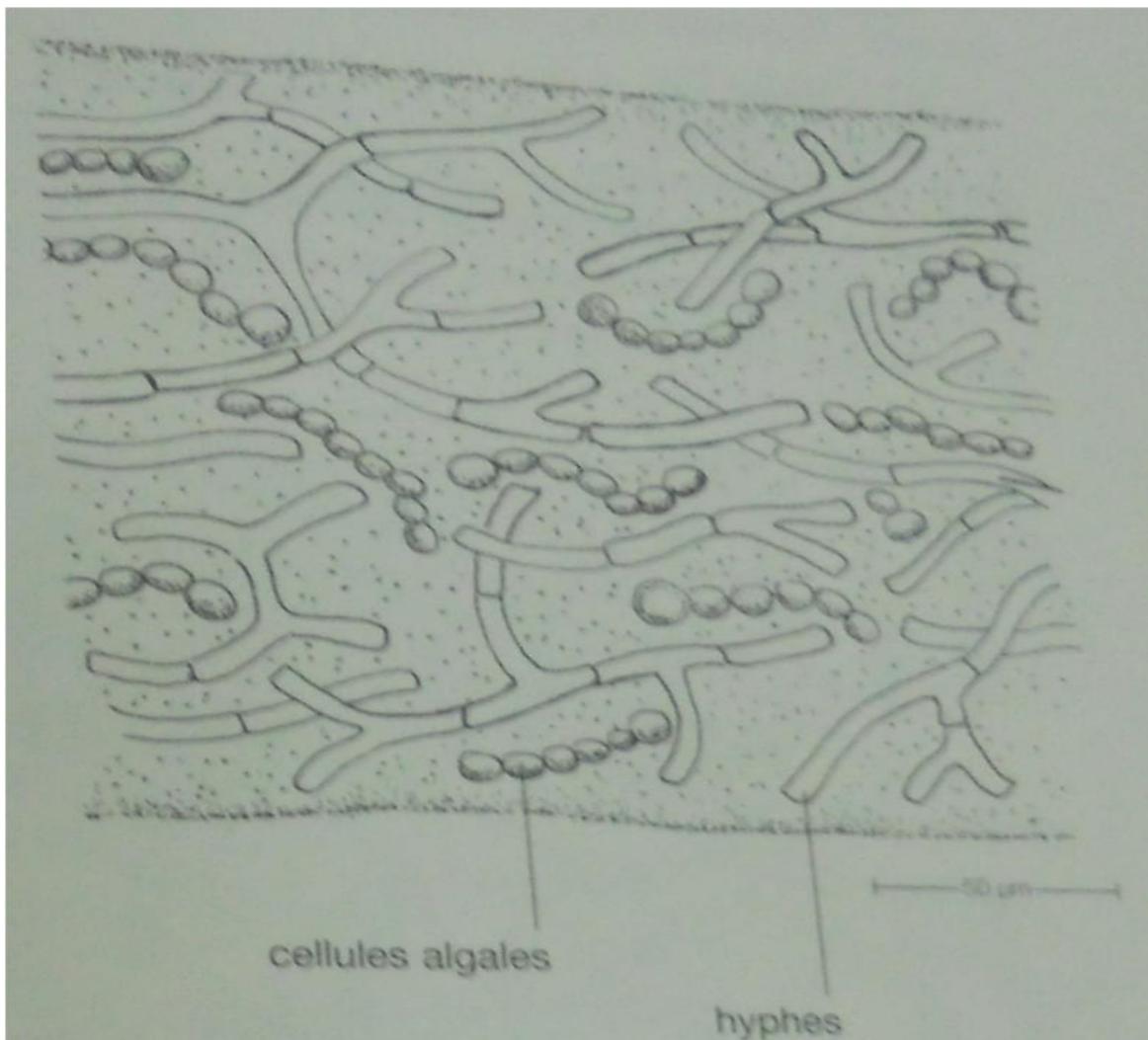


Figure 02 : structure homéomère du thalle (VAN HALUWYN et LEROND, 1993).

b)- Structure hétéromère

Les cellules algales et / ou les hyphes constituent des couches spécifiques aisément repérables par observation au microscope d'une coupe transversale (TIEVANT, 2001).

On observe deux types de structures hétéromères :

d)-Structure stratifiée

C'est la structure de la plupart des lichens foliacés, de beaucoup de lichens crustacés et de quelques lichens fruticuleux (TIEVANT, 2001).

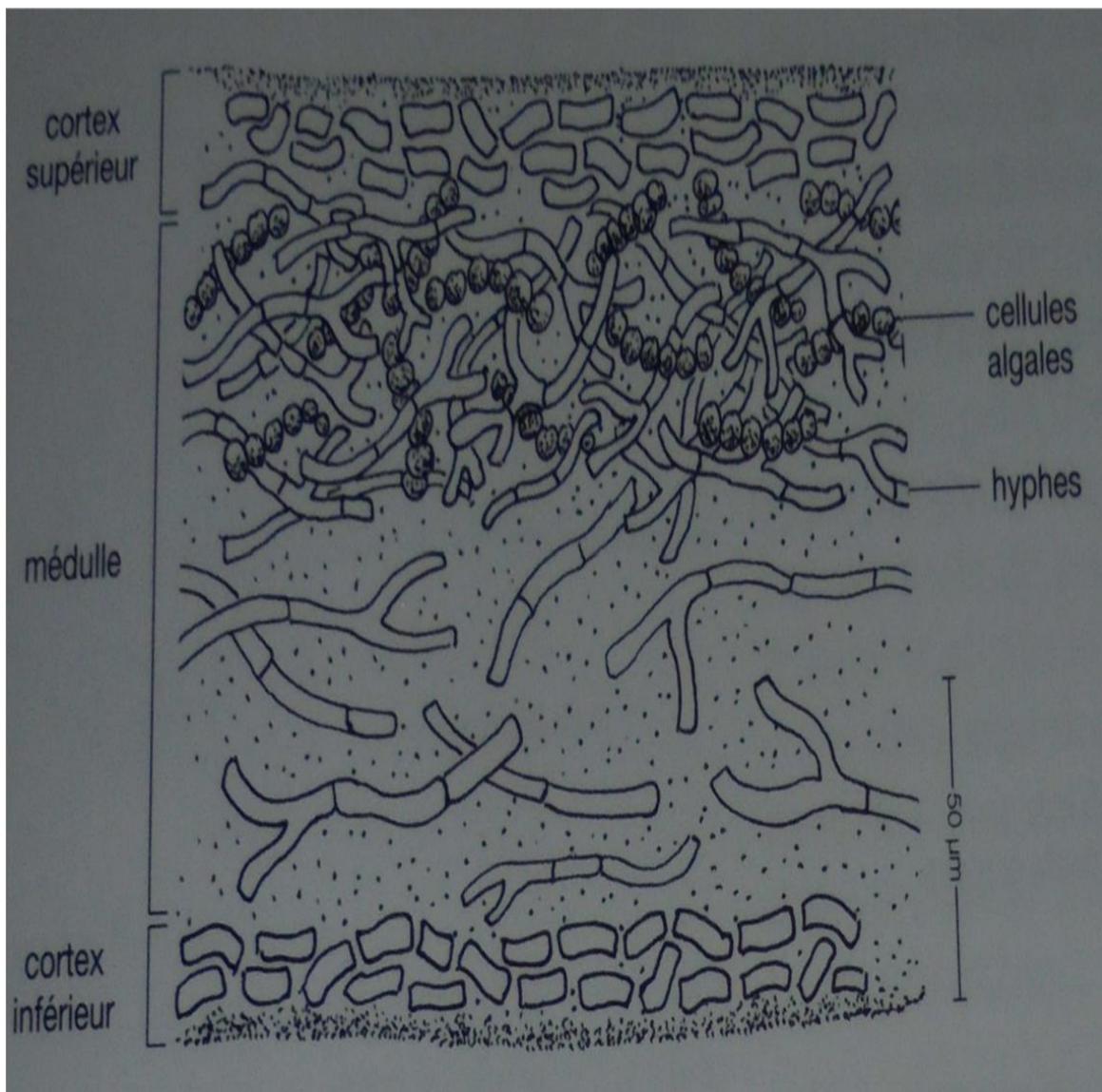


Figure 03 : structure hétéromère stratifiée du thalle (VAN HALUWYN et LEROND, 1993).

e)-Structures radiées

C'est la structure de la plupart des lichens fruticuleux. On y retrouve les mêmes couches, mais disposées de façon concentrique, le cortex inférieur est absent (TIEVANT, 2001).

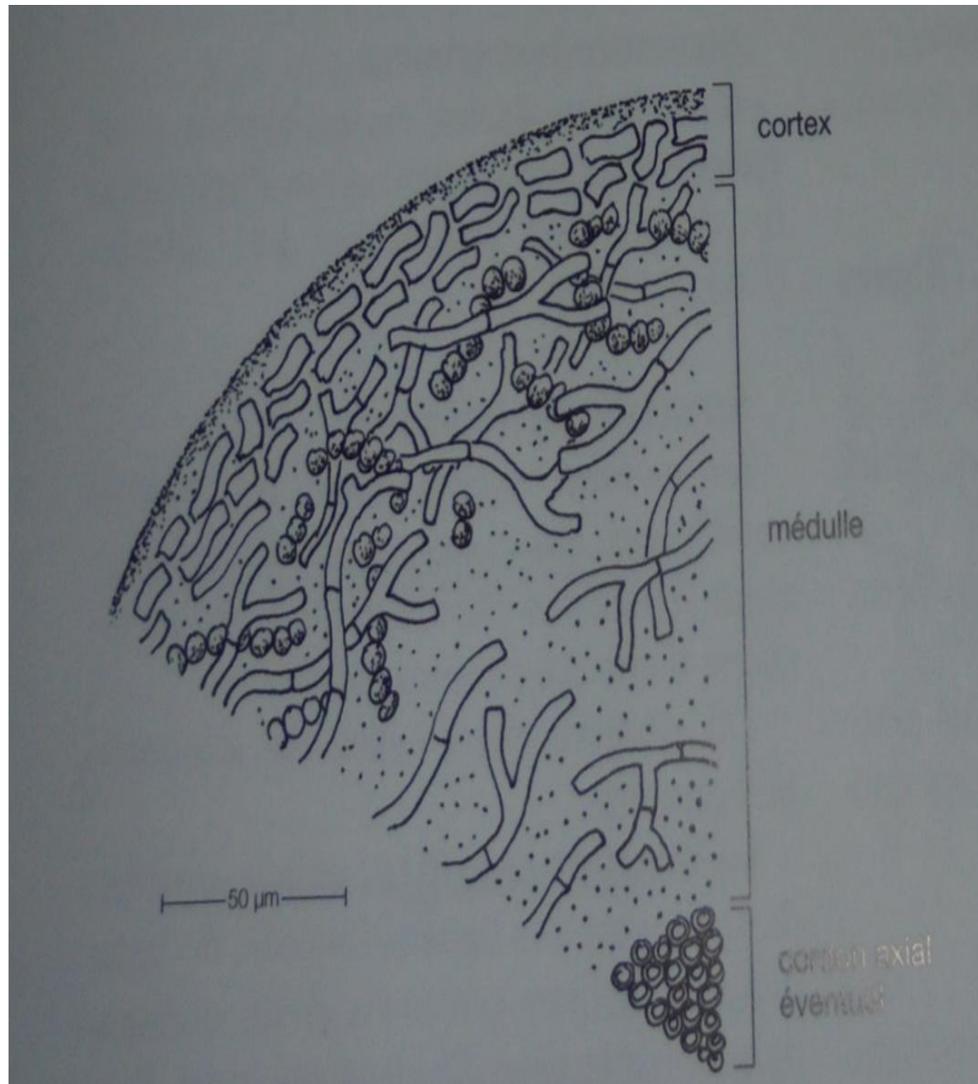


Figure 04 : structure hétéromère radiée du thalle (VAN HALUWYN et LEROND, 1993).

f)-Structure filamenteuse

Ils 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-8- Classification des lichens

Avant 1860, les lichens étaient considérés comme des mousses, puis rapprochés des fougères et des algues finalement des champignons.

En 1867, un botaniste suisse SCHEWENDENER, a découvert la qualité profonde de ces organismes formés de l'union d'une algue et d'un champignon.

Les lichens sont classés dans le règne fongique et étudiés par une nouvelle science nommée lichénologie. On distingue :

-a) Les ascolichens : ce groupe de lichens comprend presque la totalité des lichens.

Leurs mycosymbiote, est un ascomycète. Ils sont caractérisés par la formation de spore à l'intérieur des asques.

-b) Les basidiolichens : leur mycosymbiote est un basidiomycète. Les spores sont produites par des basides sur un hyménium lisse.

-c) Les hypolichens : leur mycosymbiote est imparfait par rapport à la reproduction.

I-9-Ecologie des lichens**I-9-1-Répartition géographique**

Les lichens sont répandus à travers presque toutes les régions du monde, des zones les plus extrêmes, vers les pôles, jusqu'aux sommets, à la limite des neiges éternelles, dans les déserts rocheux.

Ils sont considérés à plus d'un égard comme des végétaux pionniers, capables de coloniser la roche la plus dure, le sol le plus désert, de supporter de très grosses variations de températures : très froides (jusqu'à -40° c) ou très chaudes, des taux d'humidité ou de sécheresse très élevés (TIEVANT, 2001).

I-9-2-Les facteurs écologiques de répartition

Les lichens 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)

I-9-2-1-Les facteurs substratiques

Le substrat présente des caractères physiques ou chimiques extrêmement diversifiés.

Les lichens se développent dans des milieux très variés et sur des substrats naturels ou artificiels en fonction de leurs caractéristiques propres.

La relation intime entre le lichen et le substrat s'établit en fonction des caractères physiques et chimiques de celui-ci. Les facteurs physiques et mécaniques concernent la dureté et l'hétérogénéité de la roche. Ces facteurs conditionnent la pénétration du thalle dans le substrat et l'économie de l'eau (VAN HALUWYN et LEROND, 1993).

I-9-2-2-Les facteurs climatiques

L'atmosphère constitue un ensemble de facteurs écologiques tout à fait important par le fait que les lichens en tirent une partie de l'eau, le gaz carbonique et les sels minéraux apportés par la pluie ou le vent.

L'eau joue un rôle capital dans la répartition des lichens, en particulier le degré d'hydratation du thalle conditionne les fonctions vitales.

Ce sont des végétaux poikilohydriques, qui adaptent leur teneur en eau en fonction du substrat.

Les lichens peuvent passer de l'état de vie active à celui de vie ralentie, selon les variations de l'hydratation, c'est le phénomène de reviviscence.

On peut distinguer des espèces exigeantes en humidité atmosphérique comme le sont beaucoup de lichens fruticuleux (VAN HALUWYN et LEROND, 1993).

I-9-2-3-Les facteurs biologiques

L'action des autres êtres vivants est également déterminante dans la répartition des lichens, soit par ce qu'ils disputent leur place, détruisent ou modifient les conditions de milieu ou au contraire favorisent leur dissémination.

La végétation en place peut modifier localement les conditions climatiques et substratiques, en créant des microclimats.

De même les animaux peuvent être à l'origine de conditions nouvelles, comme les oiseaux du fait de leurs déjections sur les flancs des rochers.

L'homme, enfin, exerce une influence, dans l'ensemble néfaste, sur les conditions de milieu par la pollution qu'il engendre notamment et le recul généralisé du milieu naturel (VAN HALUWYN et LEROND, 1993).

I-10-Reproduction des lichens

La reproduction des lichens

La reproduction du lichen se fait ; soit par multiplication végétative du lichen, soit par reproduction sexuée du champignon.

Multiplication végétative

Elle se fait soit par dissémination de fragments du complexe lichénique ou par émission de sorédies ou d'isidies.

Fragmentation du thalle

Entre les périodes de pluie ou d'humidité, les Lichens se dessèchent très vite et à l'état sec ils sont extrêmement cassants. Le piétinement des animaux et de l'homme, puis la dispersion des débris par le vent joue un rôle difficile à apprécier, mais certainement considérable dans leur dispersion (OZENDA et CLAUZADE, 1970).

Emission des sorédies et isidies

- **Sorédies**

Sont des propagules de dissémination composées de quelques filaments du mycosymbiote enserrant quelques cellules gonidiales. L'organe constitué par l'ensemble des sorédies porte le nom de soralie. Les insectes et le vent jouent un rôle actif dans leur récolte et leur transport, mais le lichen lui-même participe grâce à la différenciation de certains hyphes médullaires, à l'expulsion des sorédies (DERUELLE et LALLEMANT, 1983).

- **Isidies**

C'est une sorte de bourgeonnement du thalle, présentant hyphes et gonidies avec cortex, caractéristique de certaines espèces. Le rôle n'est pas encore parfaitement connu, mais comme ces isidies se détachent facilement et qu'elles présentent les deux constituants du lichen, ils sont considérés comme des organes de multiplication. (OZENDA, 2000).

I.4.2. Reproduction sexuée

L'appareil reproducteur des lichens est en fait celui de mycosymbiote ; le phytosymbiote, lui ne se multiplie que de façon végétative (DERUELLE et LALLEMANT, 1983).

Elle se réalise par deux types d'organes :

- **Apothécie**

C'est la fructification des discomycètes, en forme de coupe, garnie intérieurement d'un hyménium nu constitué d'asques et de paraphyse. Elle présente une grande variabilité de taille, de couleur, de structure et dans la localisation sur le thalle (VAN HALUWYN et LEROND, 1993).

- **Périthèces**

Ce sont des fructifications en forme de sphérules creuses, s'ouvrant au sommet par un port ou ostiole à travers lequel sont émises des spores. Leur structure peut être relativement très simple. Elles sont toujours plus ou moins enfoncées dans le thalle (OZENDA et CLAUZADE, 1970).

I-11-Usage des lichens

-Usage alimentaires

Un petit nombre d'espèce seulement sont utilisées dans la pratique. Elles doivent leur pouvoir nutritif à la lichénine, qui par hydrolyse libère du glucose au cours de la digestion chez les ruminants (OZENDA, 2000).

-Dans l'alimentation humaine

Seul *Cetraria islandica*, dite mousse d'Islande, a été utilisée d'une manière assez régulière, dans les pays nordiques, sous forme de farine mélangée à la farine panifiable

Ou préparée en bouillie. Cette farine est parfois employée comme ingrédient en chocolaterie et en pâtisserie, et la fabrication du pain pour les diabétiques (OZENDA et CLAUZADE, 1970).

-Dans l'alimentation des animaux

Il est possible que les lichens jouent un rôle important dans la nutrition des mammifères alpins, Notamment dans la nutrition du renne et de son homologue nord américain, le caribou (OZENDA, 2000).

-Usages médicaux

Le principal intérêt des lichens en médecine semble être actuellement la possibilité d'en extraire des antibiotiques.

L'usage médical des lichens, comme celui de nombreux végétaux, a été longtemps lié au « principe des signatures » : analogie de forme ou de couleur entre la plante et l'organe à soigner.

Ainsi *Lobaria pulmonaria*, en vertu de sa ressemblance avec les poumons, était prescrit pour la toux et les autres affections de la poitrine

Et *Xanthoria parietina*, de couleur jaune vif, était censé guérir la jaunisse et les maladies du foie.

L'acide usnique des usnées semble actif contre une vingtaine de bactérie, dont le colibacille et divers agents de la tuberculose.

Une autre substance antibactérienne a été obtenue à l'état cristallisé à partir de *Ramalina reticulata*, elle active contre divers pneumocoques, streptocoques, et staphylocoques.

D'autre part, *Cetraria islandica* est encore utilisé en pharmacie dans la fabrication des pates pectorales en raison des propriétés émoullientes de la lichénine. (OZENDA, 2000).

-usage industriels

Les lichens ont également été utilisés pour les couleurs qu'ils libèrent, dans la teinture des laines et des tissus.

Certains lichens libèrent une couleur par simple ébullition :

Ce sont des teintes jaunes, orangées, brunes, vertes,..... Ils ont été utilisés ainsi que de nombreuses autres plantes par des générations de paysans, dans un cadre familial et traditionnels.

-Parfums :

Les lichens ont été également utilisés pour la parfumerie et le sont encore aujourd'hui.

L'espèce *Evernia prunastri* et *pseudevernia furfuracea* est la plus utilisée pour leur essence dans la fabrication de différents parfums et de savon. Ils dégagent une odeur très particulière, caractéristique et tenace (TIEVANT, 2001).

II-Biochimie des lichens

L'étude biochimique des lichens a conduit à la mise en évidence des substances comme les métabolites primaire fondamentales communes à tous les êtres vivants, entrant dans la composition de cellules et des membranes. Et les métabolites secondaires spécifiques des lichens appelées substances lichéniques (SOUCHON, 1971).

II-1-Les échanges chimiques de substances chimiques entre les associés

Il existe des relations anatomiques entre l'algue et le champignon. En d'autres termes, ces contacts s'établissent entre un producteur (l'algue ou cyanobactérie autotrophe) et un consommateur (le champignon hétérotrophe), Les algues vertes produisent de nombreux composés nécessaires au champignon, notamment de la vitamine B et des polyols dérivés des sucres (VAN HALUWYN et LEROND, 1993).

II-2-Substances fournies par le photosymbiote

II-2-1-Substances carbonées

Les hydrates de carbone cédés par le photosymbiote sont ensuite transformés par le champignon en mannitol et arabitol. Ces deux sucres-alcools sont les principaux hydrates de carbone solubles présents chez la plupart des champignons. En raison, de leur structure chimique et de la pression osmotique élevée qu'ils assurent de l'intégrité du thalle lors des dessiccations (VAN HALUWYN et LEROND, 1993).

II-2-2-Substances azotées

Dans le cas des cyanobactéries, le carbone est cédé au champignon plutôt sous forme de glucose. Elles sont aussi capables de fixer l'azote atmosphérique, fourni au champignon sous forme d'ammonium.

II-3-Substances fournies par le mycosymbiote

Les substances glucidiques peuvent également provenir du substrat à travers le champignon.

Il existe donc un transfert de photosynthétats vers le mycosymbiote, d'eau et de substances dissoutes, voire même de glucides, vers le photosymbiote.

Au sein du lichen, le mycosymbiote assure la structure et la protection physique ainsi que la reproduction sexuée. Grace aux rhizines, le champignon a un rôle de fixation sur le substrat.

Aussi, il fournit au photosymbiote l'eau, les sels minéraux et des vitamines telles que la vitamine C. les polyols et le glucose, fournis par le champignon en polysaccharides et en métabolites secondaires, appelés substances lichéniques(VAN HALUWYN et LEROND, 1993).

II-4-Spécialisations biochimiques

Les acides lichéniques, ou plus exactement les substances lichénique ou métabolites secondaires, sont des substances cristallines, extracellulaires, localisées dans le cortex, la médulle ou d'autres structures (thécium, excipulum etc). Ces substances sont hydrophobes mais solubles dans les solvants organiques.

Le champignon est sous l'impulsion de l'algue qui lui impose certaines voies de synthèse (VAN HALUWYN et LEROND, 1993).

II-5-La biosynthèse des substances lichéniques

Il existe trois voies de synthèses à la base de nature chimique et la biogenèse de substances lichéniques :

II-5-1-Voie de l'acetyl-polymalonyl:

La voie de l'acetyl-polymalonyl donne des esters phénoliques substitués appelés depsides et des esters et éthers phénoliques appelés depsidones. Toutes ces substances sont incolores.

Ces substances dérivent toutes de deux diphénoles, l'orcinol et β orcinol ou plus exactement de l'acide orsellinique (GAUCHER et SPHERD, 1968).

L'acide orsellinique et ses dérivés conduisent à la formation des depsides de la famille de l'orcinol.

II-5-1-1-Les depsides:

sont formés à partir de composé monocycliques (acides orselliniques et ses dérivés). On distingue deux sous familles de depsides, les para-depside formés à partir des composés monocycliques et les méta-depsides issus des para-depsides.

les depsides se répartissent en deux types, les depsides dérivés de l'orcinol et depsides dérivés du β orcinol.

II-5-1-2-Les depsidones:

Les depsidones dérivent de la cyclisation oxydative des depsides qui est en fait une déshydrogénation intramoléculaire.

Selon Elix et *al*, (1987 a), les depsidones dérivent des para-depsides qui, transformés en méta-depsides, mèneront par la suite à la formation des depsidones.

On distingue deux types de depsidones:

les depsidones issus de l'orcinol et ceux issus du β orcinol.

II-5-1-3-Les depsidones dérivés du β orcinol:

les molécules de cette sous famille présentent presque toutes un CHO à la place du CH₃ voisin du O-CH₃, on peut citer aussi l'acide protocétrarique et l'acide fumarprotocétrarique de nombreux Cladonia.

II-5-2- La voie mévalonate

Elle conduit essentiellement aux di- et triterpènes, aux stéroïdes et aux caroténoïdes. Le plus connu des triterpènes est la zéorine.

II-5-3- La voie de l'acide shikimique

Elle donne naissance à trois substances non spécifiques aux lichens :

- l'acide polyporique.
- l'acide théléphorique.
- L'acide pulvinique et ses dérivés (VAN HALUWYN et LEROND, 1993).

II-6-Localisation des substances lichéniques

Certains composés tels que les dibenzofuranes (acide usnique), depsides, depsidones, ou sont retrouvés dans les lichens, la plupart de ces métabolites secondaires sont existents sous forme de cristaux sur les surfaces externes des hyphes dans le cortex supérieur ou dans la médulle du thalle (BOUSTIE, 2011).

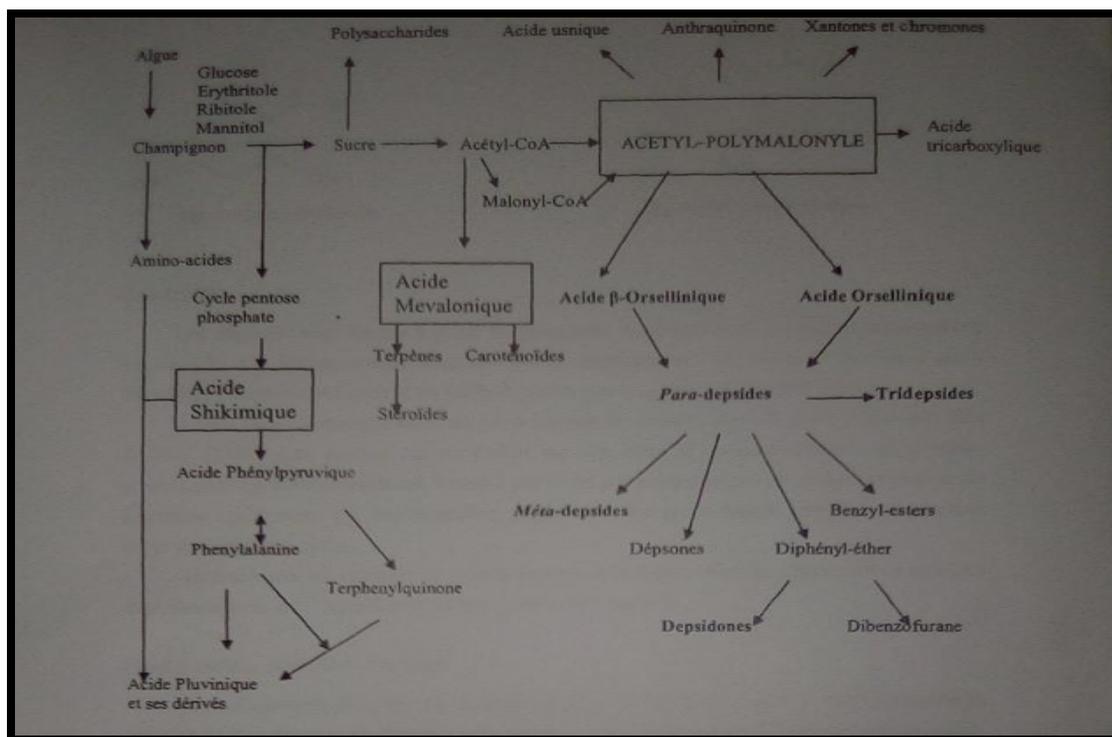


Figure 05 : biogénèse des substances lichéniques (VAN HALWYN et LEROND, 1993).

II-7-Importance des substances lichéniques

Le lichen tire profit de caractéristiques suivantes des substances lichéniques

II-7-1-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.

II-7-2-Propriétés chélatantes : les substances lichéniques peuvent assurer une certaine protection par chélation des métaux lourds essentiellement présents dans le milieu. Des travaux réalisés sur le lichen *Disproschistes muscorum*, hyperaccumulateur de zinc, ont mis en évidence la formation de complexes de ce métal avec l'acide oxalique ainsi qu'avec les substances lichéniques (CUNYS et *al.*, 2004). Ce phénomène de complexation a été également observé pour le plomb, et le cadmium (Chatenet et Bataineau, 2001).

II-7-3-Propriétés antibiotiques

De nombreuses substances lichéniques, ont des propriétés antibiotiques, tels que l'acide usnique. Son activité antibiotique est considérée comme étant son principale rôle biologique au sein du lichen. Elle a été évaluée par une étude réalisée par Chaba, 2012 sur les bactéries à gram positif et des bactéries à gram négatif.

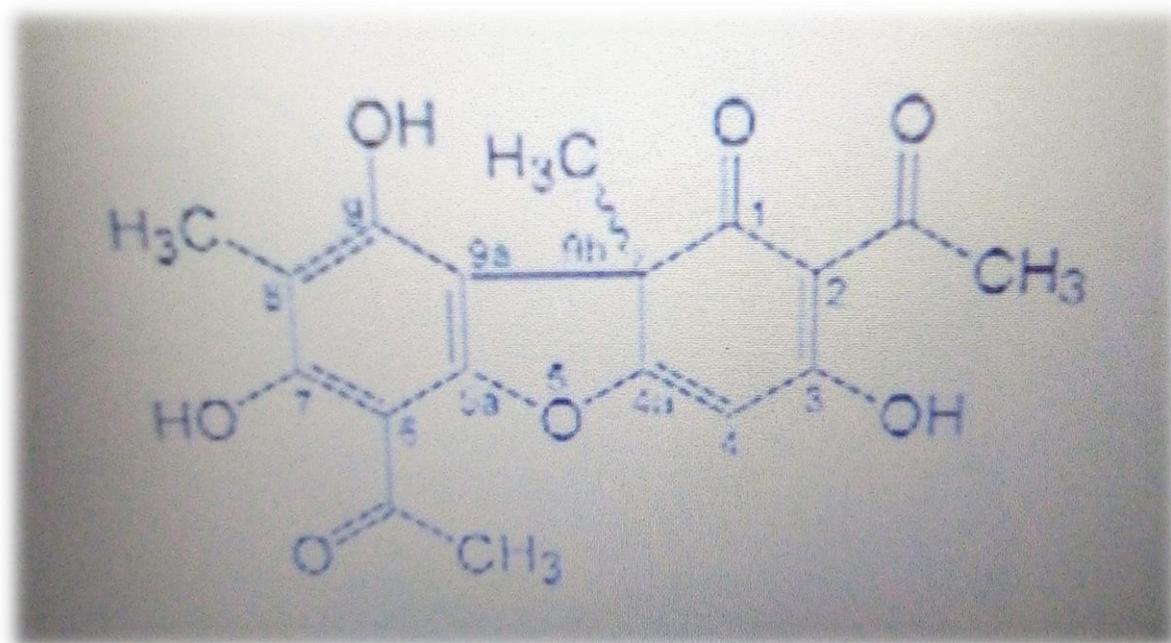


Figure 06 : la structure de l'acide usnique (INGOLFSDOTTIR, 2002).

II-7-4-Propriétés anti herbivores : protection contre les herbivores par production de substances toxiques (LAWREY, 1986).

Du fait de leur faible valeur nutritionnelle, les lichens sont peu consommés par les herbivores. Néanmoins, dans plusieurs situations écologiques, les lichens représentent une ressource considérable pour les herbivores. Ainsi, dans les régions boréales de l'hémisphère Nord, le lichen *Cladonia rangiferina* est la nourriture principale des rennes en hiver.

Ces derniers ne consomment pas les lichens contenant les acides fumarprocétrique, salazinique et plysadique (Rundel, 1978).

En effet, des travaux effectués sur des campagnoles roussâtres (NYBAKKEN et al., 2010) ont montré le rôle anti herbivore de plusieurs composés tels que l'atranorine, les acides fumarprotocétrique, usniques et lecanoriniques.

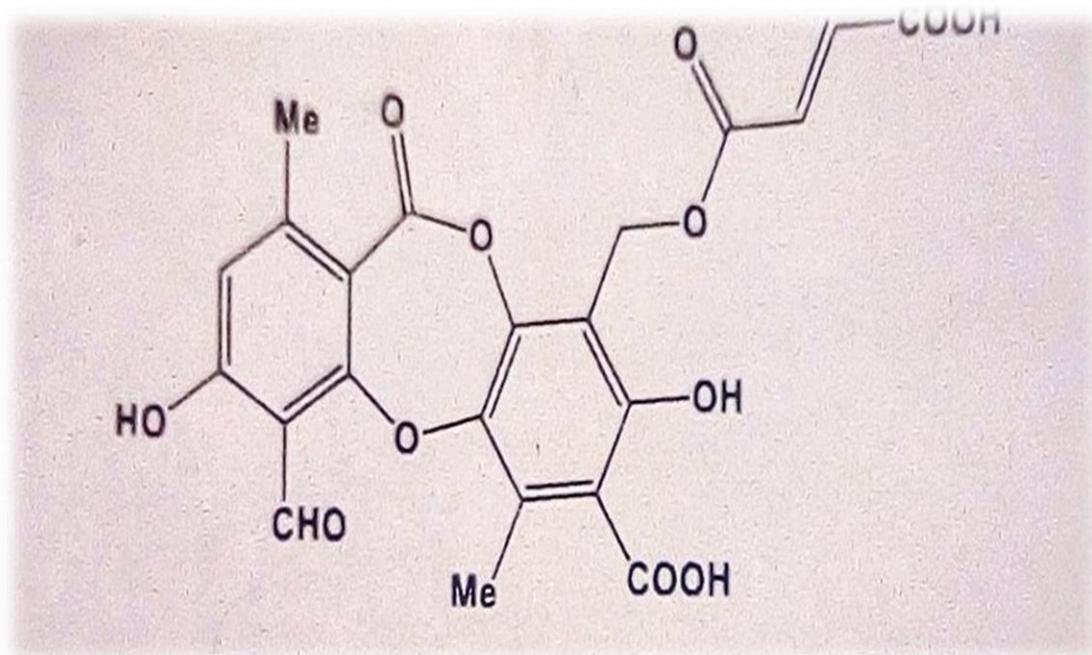


Figure 07 : structure de l'acide fumarprotocétrarique possédant l'activité anti herbivore.

IV-Résultats et discussion

Résultats de la chromatographie :

- Calcule le RF des trois espèces :

espèce	<i>Cladonia foliaca</i>	<i>Evernia prunastri</i>	<i>Parmélia acetabulum</i>
RF	0,76	0.33	0.23



Figure 14 : profils chromatographique avec comme phase mobile (130ml d'hexane, 20 ml d'acide formique et 80ml de Diethylether).

Ep : *Evernia prunastri*

Cf : *Cladonia foliaca*.

Pa: *Parmelia acetabulum*

Les descriptions sont basées sur l'aspect de ces substances lichéniques cristallisées selon le réactif de cristallisation utilisé.

IV-1-Observation de l'extrait acétonique :

L'observation des cristaux est réalisée au microscope en lumière polarisée au laboratoire de géologie de Tamda (fig15) (originelle) x 100 :

Espèce	Le réactif cristallogène GE	Le réactif cristallogène GAW
<i>Cladonia foliacea</i>		

Figure 15: Les substances lichéniques observées au microscope en lumière polarisée chez *Cladonia foliacea* dans les deux milieux de cristallisation (GAW et GE).

IV-2-Observation avec l'extrait acétonique du composé majoritaire :

L'observation des cristaux est réalisée au microscope en lumière polarisée au laboratoire de géologie de Tamda (fig16) (originelle) x 100 :

Espèce	Le réactif cristallogène GE	Le réactif cristallogène GAW
<i>Cladonia foliacea</i>		

Figure 16 : Les substances lichéniques observées au microscope en lumière polarisé chez *Cladonia foliacea* dans les deux milieux de cristallisation (GAW et GE).

IV-3-Observation avec l'extrait lichénique dans l'hexane :

L'observation des cristaux est réalisée au microscope en lumière polarisée au laboratoire de géologie de Tamda (fig17) (originelle) x100 :

Espèce	Le réactif cristallogène GE	Le réactif cristallogène GAW
<i>Cladonia foliacea</i>		

Figure 17 : Les substances lichéniques observées au microscope en lumière polarisée chez *Cladonia foliacea* dans les deux milieux de cristallisation (GAW et GE).

IV-4-Observation avec l'extrait acétonique :

L'observation des cristaux est réalisée au microscope en lumière polarisée au laboratoire de géologie de Tamda (fig18) (originelle) x100 :

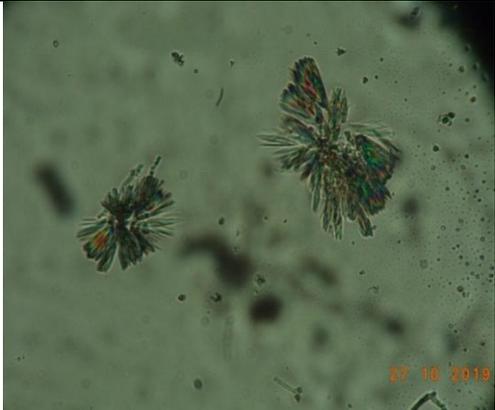
Espèce	Le réactif cristallogène GE	Le réactif cristallogène GAW
<i>Evernia prunastri</i>		

Figure 18 : Les substances lichéniques observées au microscope en lumière polarisé chez *Evernia prunastri* dans les deux milieux de cristallisation (GAW et GE).

IV-5-Observation avec l'extrait lichénique : (lichen dans l'acétone) :

L'observation des cristaux est réalisée au microscope en lumière polarisée au laboratoire de géologie de Tamba (fig19) (originelle) x100 :

Espece	Le réactif cristallogène GE	Le réactif cristallogène GAW
<i>Cladonia foliacea</i>		

Figure 19 : Les substances lichéniques observées au microscope en lumière polarisée chez *Parmelia acetabulum* dans les deux milieux de cristallisation (GAW et GE).

IV-6-Discussion :

La C.C.M a mis en évidence la présence des depsides et depsidones révélés grâce à une solution alcoolique de Trichloroferrique qui est un révélateur spécifique de ces composés.

La depsidone la plus répandue chez les espèces lichéniques du genre *Cladonia foliacea* est l'acide fumarprotocétrarique que nous supposons être présents chez l'espèce étudiée. Les résultats obtenus par C.C.M. Cependant, nous ne pouvons le confirmer vu le manque de témoins de cette acide qui nous ne permet pas d'exploiter les résultats des Rf. Seul le facteur substrat acide caractéristique de *Cladonia foliacea*, nous permet de supposer la présence de cet acide chez cette espèce, car la production de l'acide fumarprotocétrarique est reliée à une préférence des lichens qui le produit pour les substrats acides. A fin de vérifier, la présence de ce composé dans nos extraits nous avons procédé à la microcristallisation du composé majoritaire dans les deux réactifs cristallogènes GE et GAW a montré la formation des cristaux en aiguilles souvent groupés en étoiles à branche irrégulière. Cette technique nous a permis d'observer la formation de cristaux sous forme d'aiguilles groupées en étoiles à branche irrégulières. Ce qui l'aisse supposer la présence de l'acide fumarprotocétrarique composé caractéristique des lichens du genre *Cladonia*. Chez les deux autres espèces corticoles *Evernia prunastri* et *parmelia acetabulum*, ce composé n'a pas été observé.

Cette étude a eu comme but l'extraction et l'identification de quelques substances lichéniques à partir d'un lichen terricole *Cladonia foliacea* récoltée à une altitude de 600m, Comme l'ont témoigné de nombreuses études, cette espèce est caractérisée par la présence d'un composé majoritaire, l'acide fumarprotocétrarique qui est une depsidone dérivée de beta orcinol mais par manque de témoin nous ne pouvons confirmer la présence de ce composé chez l'espèce étudiée.

Cependant, la chromatographie sur couche mince a bien révélé la présence des depsidones chez *Cladonia foliacea* ainsi que chez les deux autres espèces corticole.

En perspective de recherche, il serait intéressant d'étudier l'espèce *Cladonia foliacea* de différentes régions afin de déterminer des chemotypes car il est fréquent de constater que des lichens de la même espèce mais de localisation géographique différente ou soumis à des contraintes écologiques diverses présentent des profils chimique différents.

En effet, de nombreuses études notamment de pharmacognosie s'intéressent au rôle de ces substances lichénique dans la production d'antibiotiques et de substances protectrices contre les cancers de la peau.

Il est donc, impératif de préserver et de conserver ces végétaux.

- Boissiere, J.C.1991.***Chromatographique des substances lichéniques. Bull. Ass.Fr.Lichenol.*16 :11-20.
- Cunyd., Denayer F., de Foucault B.,Coleinp P.,Van haluwyn C., 2004.***Patterns Of metal soil contamination. Environnemental pollution* 129:289-297.
- Culberson, C.F, kristinson, H.D., 1970.**A Stantardized method for the Identification of lichen products.*J. chromatog.* A46, 85-93.
- Deruelle S et Lallemand R .1983 .** *Les lichens témoins de la pollution.* Université biologie.
- Huneck, S., Yoshimura, I., 1996.** *Identification of lichen substances.* Springer.
- Orange A., James p.w et white F.J., 2010.** *microchemical methods for the Identification of lichens. The britich lichen society,* 101 P.
- Ingolfsdottir, K., 2002.***Usnic acid.phytochemistory* 61,729.
- Gaveriaux J.P.,2003.** Principaux produits lichéniques utilisés en lichénologie.*Bull.Ass.Fr.lichénologie.vol.28(1) :45-60.*
- Nybakken, L., Helmersen, A-M., Gauslaa, Y.Selas, V.,2010.***lichen. Compounds reslain fee ding by Bank voles (myodes glareolus).**J.chem.Ecol.*36, 298-304.
- Ozenda P .2000.** *Les végétaux, organisation et diversité biologique. 2^{eme} éditionDunoud. Paris. Pp.181- 191.*
- Ozenda P.,Clauzade G.1970.** *Les lichens: étude biologique et flore Illustrée .Paris,Masson et cie.Paris.*
- Tievant P .2001.***Guide des lichens.350 espèces de lichens d'Europe.Paris.*
- Van Haluwyn et Lerond .1993.** *Guide des lichens. Ed. Le chevalier.*
- Gaucher G.M., Shepherd M.G., 1968.** *Isolation of orselinic acid synthase, Biochem. Biophys: Res. Coummun,* 32, 644-671.

Résumé :

Les lichens, organismes symbiotiques sont capables de s'adapter à des conditions environnementales extrêmes grâce à l'élaboration de métabolites secondaires appelés aussi substances lichéniques, une attention particulière est portée à la présence du famille moléculaire présente chez une espèce terricole *Cladonia foliacea*. Il s'agit des depsidones dérivés du β orcinol. C'est le cas de l'acide fumarprotocétrarique qui, d'après la littérature est un composé majoritaire chez cette espèce, identifié grâce à deux techniques, la chromatographie sur une couche mince et la microcristallisation.

La C.C.M. a mis en évidence la présence des depsidones et des depsides grâce a une solution alcoolique trichloroférique qui est un révélateur spécifique de ce composé.

Abstract:

Lichens, symbiotic organisms are able to adapt to extreme environmental conditions through the development of secondary metabolites also called lichenic substances, special attention is paid to the presence of the molecular family present in a soil species *Cladonia foliacea*. These are depsidones derived from β orcinol. This is the case of fumarprotocetraric acid, which according to the literature is a major compound in this species, identified by two techniques, thin-layer chromatography and microcrystallization.

C.C.M. has demonstrated the presence of depsidones and depsides with a trichloroferamic alcohol solution which is a specific developer of this compound.