

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud MAMMERRI de Tizi-Ouzou

Faculté des sciences agronomique et des sciences biologiques

Département de biochimie et microbiologie



mémoire de fin d'études
mémoire de fin d'études



En vue de l'obtention du diplôme de master

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Spécialité : Biotechnologie végétale et valorisation des plantes

Thème

**Effet bio-insecticide de la poudre lichénique
(*Xanthoria parietina*) contre le ravageur du blé
(*Tribolium confusum*)**

Travail réalisé par :

Melle OUAMROUCHE DANIA

et

Melle BOUMRICHE MALIKA

Membres du jury :

Présidente : M^{me} TALEB.K

M.C.A UMMTO

Promotrice : M^{me} SAHMOUNE.F

Maitre assistante classe A à l'UMMTO

Examineur : M^f LIMANE.A

M.C.A UMMTO

Promotion : 2022/2023

Remerciements

Nous remercions en premier lieu le bon Dieu tout puissant de nous avoir donné la santé, la volonté et le courage pour réaliser ce travail

*Nos remerciements les plus profonds vont à notre promotrice : **Mme SAHMOUNE SIDI MANSOUR.F**, Professeur à l'UMMTO d'avoir accepté de nous encadrer et de nous avoir accueillez dans son Laboratoire de la faculté des sciences Biologiques et des sciences Agronomiques.*

*Nous remercions sont adressés aux membres de jury pou avoir accepté d'examiner notre travail : **M^{me} TALEB.K , M^r LIMANE.A***

Nous souhaiterons également remercier nos professeures de la faculté des sciences biologique et science agronomique pendant les cinq années du notre parcours.

Enfin toute ma sympathie et mes remerciements vont également à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.

A mes chères sœurs pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.

A mes chers frères pour leur appui et leur encouragement

A toute ma famille pour son soutien tout au long de mon parcours universitaire

A tous mes amis.

A tous ceux et toutes celles qui m'ont accompagné et soutenu durant ces années de formation

Merci d'être toujours là pour moi

Dania

Dédicaces

Tout d'abord et avant toute chose, je tiens à remercier le bon Dieu tout puissant de m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.

Je dédie ce modeste de travail :

A ma maman, la personne la plus chère à mon cœur, mon soutien moral et ma source de joie et de bonheur, pour son sacrifices et leurs encouragements pendant tous ses années.

A mon cher père, j'aimerais que tu sois là en ce moment, que dieu le garde dans son vaste paradis

A mes frères : Yacine, Lounes, Koussaila, toutes mes respects et amour pour vous et que dieu puisse vous gardez en pleine santé et bonheur et réussite dans votre vie.

A mes meilleurs amis : Rabia, Tinhinane, Adidi, Sarah, Nora, Dahbia, pour leurs aides et supports dans les moments difficiles

A toute ma famille, merci pour votre encouragement

Malika

Liste des abréviations

Liste des abréviations :

AC : acide

CCM : chromatographie sur couche mince

C°:Degré Celsius

g:gramme

H:heure

M : mitre

Mm : millimètre

MI : millilitres

RE :rendement d'extraction

%:pourcentage

Min : minute

H₂O : l'eau

GE :glycérol-acide acétique glacial (3-1)

GAW:glycerol-ethanol-eau (1-1-1)

AG : acide gallique

Liste des figures

Liste des figures :

Figure01 : image d'une association lichénique sur une branche d'arbre	05
Figure02 : Echanges nutritionnels entre les partenaires des lichens (d'après Van-Haluwyn, Astra et al, 2009)	07
Figure03 : Schéma de la morphologie d'un lichen (Van-Haluwyn, 2009).....	08
Figure04 : Un thalle crustacé (Gregory et Dimijian, 2003 ; Tiévant, 2001)	09
Figure05 : Thalle foliacé de <i>Parmelia sulcata</i> . (Gavériaux J.P., 2012-2014).....	09
Figure06 : Thalle gélatineux (sec) de <i>Collema flaccidum</i> . (Gavériaux J.P., 2012-2014).....	10
Figure07 : Thalle fruticuleux de <i>Ramalina farinacea</i>	10
Figure08 : Thalle squamuleux de <i>Normandina pulchella</i> . (Gavériaux J.P., 2012-2014).....	11
Figure09 : Thalle composite de <i>Cladonia floerkeana</i> . (Gavériaux J.P., 2012-2014)	11
Figure10 : Structure homéomère : coupe transversale du thalle (Ozenda et Clauzade, 1970)	12
Figure11 : structure hétéromère radiée du thalle (VAN HALUWYN et LEROND, 1993).....	13
Figure12 : Structure hétéromère stratifiée du thalle (VAN HALUWYN et LEROND, 1993)	14
Figure13 : Organe de face supérieur du thalle (Flagey ; 1888, Ozenda et Clauzade ; 1970 et Agnes ; 2004)	15
Figure14 : Organes de face inférieure du thalle (Tiévant, 2001)	16
Figure15 : Reproduction asexuée par isidies (Beguinot et al, 1998)	17
Figure16 : Reproduction asexuée par soralies (Beguinot et al, 2010).....	17
Figure17 : Mécanismes de la reproduction sexuée (Beguinot et al, 2010).....	18
Figure18 : Structure des précurseurs des composés de la voie de l'acide mévalonique. (Andraud-Dieu, 2015)	18
Figure19 : Structure chimique de l'acide shikimique, de la phénylalanine et des composés dérivés de l'acide pulvinique. (Andraud-Dieu, 2015)	19

Liste des figures

Figure20 : Structure chimique de la pariétine	20
Figure21 : Biogenèse des substances lichéniques (Van Haluwyn et Lerond, 1993).....	21
Figure22 : <i>Tribolium confusum</i>	28
Figure23 : cycle de développement de <i>Tribolium confusum</i>	29
Figure24 : Dégâts de tribolium sur la semoule fine. (HAMIDOUCHE ,2020)	30
Figure25 : espèce <i>Xanthoria parietina</i> observé à la loupe en grossissement x 100 (Originelle, 2022)	31
Figure26 : zone de récolte de l'espèce lichénique <i>Xanthoria parietina</i> (originale, 2023).....	32
Figure 27 : Localisation de la forêt de Darna (Google Maps ,2023)	33
Figure28 : l'obtention d'un extrait lichénique avec de l'acétone (photo originale, 2023).....	34
Figure 29 : traitement de semoule avec différentes doses de la poudre lichénique de <i>Xanthoria parietina</i> contre le ravageur <i>Tribolium confusum</i> (photo originale, 2023)	35
Figure 30 : chromatographie réalisée au laboratoire (130 ml Hexane +80ml Diethylether +20ml acide formique) (photo originale, 2023)	36
Figure 31 : chromatographie réaliser au laboratoire (70 ml Toluène + 20ml d'acide formique) (photo originale, 2023).....	36
Figure 32 : histogramme de mortalité en % en fonction du temps pour le témoin	40
Figure 33 : histogramme de mortalité en % en fonction du temps pour la dose 4g.....	41
Figure 34 : histogramme de mortalité en % en fonction du temps pour la dose 6g.....	42
Figure 35 : histogramme de mortalité en % en fonction du temps pour la dose 8g.....	43
Figure 36 : histogramme de mortalité en % en fonction du temps pour la dose 12g.....	44
Figure 37 : histogramme de taux de mortalité en % en fonction du temps pour les cinq doses.....	46
Figure 38 : profil chimique de <i>Xanthoria parietina</i>	47
Figure 39 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique	48

Liste des tableaux

Liste des tableaux :

Tableau 01 : Récapitule ces différentes voies de biosynthèse décrites dans la littérature pour les composés secondaires lichénique	23
Tableau 02 : classification systématique de <i>Tribolium confusum</i>	27
Tableau 03 : le taux de mortalité pour la dose 0g (témoin)	40
Tableau 04 : le taux de mortalité en % pou la dose 0g	40
Tableau 05 : le taux de mortalité pour la dos 4g	41
Tableau 06 : le taux de mortalité en % pour la dose 4g	41
Tableau 07 : le taux de mortalité pour la dose 6g	42
Tableau 08 : le taux de mortalité en % pour la dose 6g	42
Tableau 09 : le taux de mortalité pour la dose 8g	43
Tableau10 : le taux de mortalité en % pour la dose 8g	43
Tableau 11 : le taux de mortalité pour la dose 12g	44
Tableau 12 : le taux de mortalité en % pour la dose 12g	44
Tableau13 : Tableau global pour les cinq doses	45
Tableau14 : Tableau global de taux de mortalité en % pour les cinq doses	45
Tableau 15 : Rendement de l'extrait acétonique de <i>Xanthoria parietina</i>	47
Tableau 16 : tableau de concentration de <i>Xanthoria parietina</i> des doses (4g/12g)	48
Tableau 17 : tableau de concentration de 3 essais d'extrait de <i>Xanthoria parietina</i>	49
Tableau 18 : Le taux de mortalité pour la dose 4g	49
Tableau 19 : Le taux de mortalité pour la dose 12g	50
Tableau 20 : Résultats de la microcristallisation avec différentes réactifs cristallogène.....	51

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 02

Chapitre I : Généralités sur les lichens

I .1. Définition..... 05

I.2. Classification des lichens 05

I.3.les constituants des lichens 06

I.4.la symbiose lichénique..... 06

I.4.1. : Échange nutritionnels entre mycobionte et photobionte..... 06

I.4.2 : Conséquence de la symbiose lichénique 07

I-5 : La morphologie des thalles lichénique 08

I-6 : Anatomie et structure des lichens 12

I-7 : Organes non reproducteurs portés par le thalle 15

I-7-1 : Organes portés par la face supérieure du thalle 15

I-7-2 : Organes portés par la face inférieure du thalle 16

I.8 : La reproduction chez les lichens 17

I.8.1. La reproduction végétative 17

I.8.2 : La reproduction sexuée	18
I.9 : Métabolisme des lichens	18
I.9.1 : Métabolites primaires	18
I.9.2 : Métabolites secondaires	19
I.9.3 : Voies de biosynthèse des acides lichéniques	19
I.9.3.1. Voie de l'acide mévalonique	19
I.9.3.2. Voie de l'acide shikimique	20
I.9.3.3. Voie acétate-malonate	20
I.9.4 : Les rôles des substances lichéniques	22
I.10: Les usages des lichens	23
I.10.1. Usages alimentaires	23
I.10.2. Usages médicaux	24
I.10.3. Usages industriels	24
I.10.4. Usages en bio-indication	24

Partie pratique

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1 : Matériel animal (Le <i>Tribolium confusum</i>)	27
II.1.2. Caractères généraux	27
II.1.3. Origine et répartition	28
II.1.4. Morphologie	28
II.1.5. Description des différents stades de développement de <i>Tribolium confusum</i>	29
II.1.6. Les dégâts causés par le tribolium	30

II.2 .Matériel végétal	30
II.2.1.Présentation du site du prélèvement	30
II .2.2. Description de l'espèce récoltée <i>Xanthoria parietina</i>	30
II .2.3 : Classification du <i>Xanthoria parietina</i>	31
II.2.4.Paramètres écologiques.....	32
II.3 : La méthodologie	32
II .3.1 : la récolte et choix de l'espèce lichénique	32
II.3.2: la préparation du matériel végétal	33
II.3.3.L'extraction des substances lichéniques	33
II.3.4.Activité bio-insecticide de la poudre lichénique du <i>Xanthoria parietina</i>	34
II.4. Chromatographie sur couche mince « CCM »	35
II.4.1.Mode opératoire de la chromatographie sur couche mince	35
II.5.Dosage des Polyphénols totaux	37
II.6.La microcristallisation	38

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Résultats de l'activité bio-insecticide de la poudre lichénique de <i>Xanthoria parietina</i>	40
III2.Résultats de l'identification de l'extrait lichénique de <i>Xanthoria parietina</i> par la méthode de chromatographie sur couche mince CCM	46
III2.1 .L'observation de la plaque chromatographique	46
III3.Résultat de rendement d'extraction (RE)	47
III4.Dosage des Polyphénols totaux	48
III5. Résultats de la microcristallisation	50
III .6.Discussion.....	52

La conclusion 54

Abstract



Introduction

INTRODUCTION

Les lichens résultent d'une association symbiotique entre un champignon (mycobionte) et une algue et/ou une cyanobactérie (photobionte). Environ 85% des photobiontes sont des algues vertes et 10% sont des cyanobactéries (**Shresthaetclair, 2013**).

Les civilisations anciennes leurs connaissaient déjà des propriétés remarquables : les égyptiens les utilisaient par exemple pour préserver l'odeur des épices d'embaumement ou encore pour traiter les maux. Bien que moins utilisés que les plantes en médecine traditionnelle, ils sont devenus plus récemment des sources potentielles de substances biologiquement actives. Ainsi, de nombreuses espèces font l'objet d'études phytochimiques approfondies afin de mettre à jour des composés nouveaux, qui pourraient trouver des applications dans des domaines tels que l'industrie des colorants ou encore cosmétique (**Andraud-Dieu, 2015**).

Ils ont également occupé une place importante dans l'industrie pharmaceutique, exemple de *Xanthoria parietina* de couleur jaune été censé guérir la jaunisse et les maladies du foie, et ont été encore employés comme support en parfumerie. Les lichens sont utilisés aussi comme bio-indicateurs de pollution atmosphérique (**VAN HALUWYN ET LEROND ,1993**).

Les lichens disposent d'un large spectre de composés bioactifs appelés les métabolites secondaires ou acides lichéniques qui sont des molécules très complexes insolubles dans les solvants organiques. Leurs effets biologiques comme les activités antioxydantes et antibactériennes sont largement étudiés (**Goga et al., 2020**).

Les biopesticides sont des éléments organiques qui remplacent les pesticides de synthèse jugés dangereux pour la planète. Ils mènent une lutte efficace contre les parasites du jardin.

C'est dans ce contexte que nous sommes influencés à valoriser des substances lichéniques comme biopesticides. Pour cela, notre étude porte sur l'utilisation des métabolites secondaires lichéniques extraits à partir d'un lichen *Xanthoria parietina* qui est une espèce foliacée jaune sur un insecte ravageur de blé.

Ainsi notre travail est structuré comme suit :

- **La première partie** : décrira les lichens et plus particulièrement leurs métabolites secondaires, leur voie de biosynthèse, ainsi que leur propriété biologique à travers une revue bibliographique.

INTRODUCTION

- **La seconde partie** : matériels et méthodes.
- **La troisième partie** : consacrée aux résultats et discussion et conclusion.



Chapitre I : Généralités sur les lichens

I .1 . Définition des lichens :

Les lichens, sont intégrés dans le règne fongique, résultent de l'association de symbiotique d'un champignon appelé mycobionte (du grec *mykes* : champignon ; *bios* : vie) et d'une algue verte et /ou d'une cyanobactérie appelés photobionte (du grec *photo* : lumière ; *bios* : vie). Cette symbiose confère aux lichens une structure et une reproduction spécifiques par rapport à chaque constituant seul. A la différence des plantes supérieures, ils ne possèdent ni racine, ni tige, ni feuille, mais un appareil végétatif rudimentaire : le thalle (**Yuan et al ., 2005**).



Figure01 : image d'une association lichénique sur une branche d'arbre

I.2 : Classification des lichens :

Il existe environ vingt mille espèces de Lichens, et ce nombre s'accroît chaque année. Leur systématique est difficile et devrait s'intégrer dans celle des Champignons.

Les principaux types de lichens :

1. **Ascolichens** : le partenaire fongique appartient aux ascomycètes.
 - **Gymnocarpes** : le corps fructifère est un disque comme l'apothécie. Ces lichens sont également connus sous le nom de discolichens, par exemple : *Parmelia*
 - **Pyrenocarpae** : le corps fructifère est un périthèce en forme de flacon. Par exemple : *Dermatocarpon*.

2. **Basidiolichens** : le composant fongique de ces lichens appartient à la classe des basidiomycètes. Par exemple : *Corella*, *Dicotyonema*.

I.3. Les constituants des lichens :

- **Partenaires fongiques** : « champignon ou mycobionte » : c'est lui qui englobe l'algue, qui donne la morphologie au lichens, qui assure la protection sexuée (spores), qui protège l'algue de la dessiccation et qui apporte les sels minéraux. De plus le champignon peut modifier la longueur d'onde de la lumière pour la rendre exploitable par l'algue lors de la photosynthèse. Il est constitué de filaments, les hyphes, plus ou moins fusionnés en pseudo tissus et qui enserrant les cellules algales.
- **Partenaire algale ou bactérien** : dans 90% des cas, ces algues sont des chlorophycées : algues vertes qui ont le plus souvent des cellules avec un noyau, un chloroplaste vert et des grains d'amidon. Dans 10% des cas, ce sont des cyanobactéries : algues bleues dont les cellules bleu-vert (chlorophylle et phycocyanine) n'ont pas de noyau (seulement un amas de cordons chromatiques).

I-4. La symbiose lichénique:

Le terme symbiose au grec « symbiosis » signifie : vie ensemble. (Une association intime et durable entre le myco symbiote et photo symbiote avec bénéfice réciproque dans une interdépendance nutritionnelle) (NULTSCH, 1998).

La symbiose chez les lichens implique un échange de substances chimiques entre les deux partenaires, ce qui permet de comprendre l'existence des relations anatomiques entre l'algue autotrophe et le champignon hétérotrophe. Le transfert des substances entre les deux symbiotes se réalise grâce à un haustorium, ce complexe serait le site de transfert des photosynthèses vers le mycosymbiote (VAN HALUWYN et LEROND, 1993).

I-4-1 : Échange nutritionnels entre mycobionte et photobionte :

- **Mycobionte** : le mycobionte permet la fixation au substrat, joue un rôle de protection et apporte aussi l'eau et les sels minéraux et vitamines C qu'il capte dans le substrat (Bellenfant et al., 2010).

Le caractère hydrophobe de la paroi d'origine fongique qui enveloppe la paroi algale dans un haustorium intra-pariétal explique la circulation obligée de l'eau entre les deux et sa pénétration ultérieure dans la cellule algale (VAN HALLWYN ET LEROND, 1993). Et assure aussi la structure et la reproduction sexuée (VAN HALLWYN et al., 2009).

- **Photobionte** : le Photobionte effectue la photosynthèse et fournit les deux biontes en lipides, glucides et protéines. Il transmet à son partenaire entre 20 et 40 % des produits de sa photosynthèse, sous forme de polyol (ribitol, sorbitol, érythritol) si c'est une algue verte, de glucose si c'est une algue bleue. Mais aussi des vitamines nécessaires à la croissance du champignon (biotine, thiamine) et des enzymes (JACQUELINET, 2008).

Dans les cas des cyanobactéries, le carbone est cédé au champignon plutôt sous forme de glucose. Elles sont capables de fixer l'azote atmosphérique, fourni au champignon sous forme d'ammonium. Les polyols et le glucose sont ensuite transformés par le champignon en polysaccharides et en métabolites secondaires, appelés substance lichéniques. L'association symbiotique permet donc la production de composés originaux et spécifiques qui ne pourraient pas être synthétisés par chaque individu seul (VAN HALUWYN et Al., 2009).

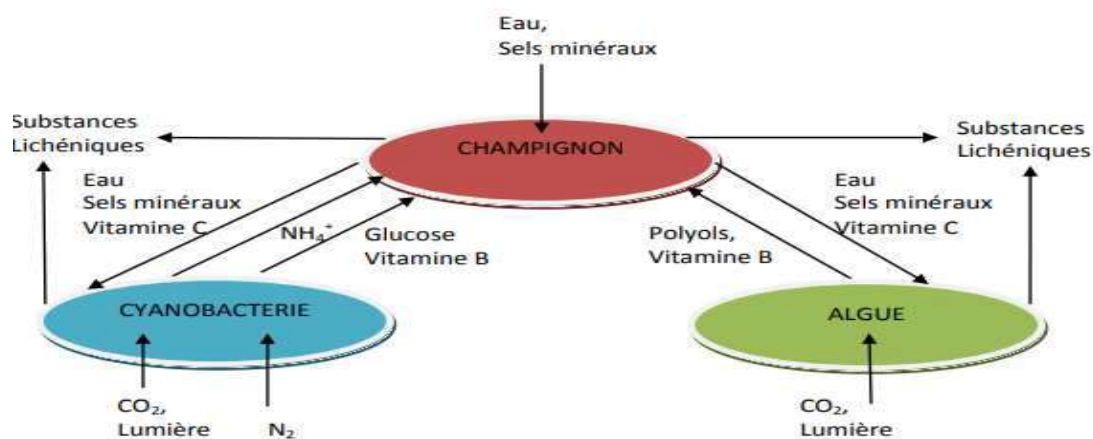


Figure02 : Echanges nutritionnels entre les partenaires des lichens (d'après Van-Haluwyn, Asta et al., 2009).

I-4-2 : Conséquence de la symbiose lichénique :

- Grâce à la symbiose, le lichen peut se développer là où ni l'algue (ou cyanobactérie) ni le champignon ne pourraient survivre. Les lichens sont des pionniers cosmopolites et ubiquistes (**VANHALLUWYN et LEROND, 1993**).
- Grâce à leurs acides, ils ont pu digérer les roches et les laves volcaniques, ce qui a permis d'installer les bases de la vie sur terre hors des océans, de permettre aux algues de migrer vers les sols puis de devenir des plantes, puis des forêts et des forêts alpines... Les lichens ont pentes des volcans, à peine la coulée de lave refroidie.
- La symbiose permet aux lichens de supporter tout, même ce qui éliminerait tout autre individu : sécheresse, exposition au soleil brûlant, substrats dépourvus de toutes valeurs alimentaires (**BEGUINOT, 2010**).
- Une étude scientifique et botanique révèle qu'ils agissent comme des coupe-faim tout en préservant la bonne santé des organes vitaux et sécrètent des antibiotiques.

I-5 : La morphologie des thalles lichéniques :

Les lichens sont inclus dans les thallophytes (végétaux dépourvus de tiges, feuilles ou racines, non vasculaires).

Le thalle est l'appareil végétatif du lichen, il assure la nutrition, et la croissance.

Le thalle est constitué d'un ensemble de filaments enchevêtrés, les hyphes, différenciés en plusieurs couches (**BRICAUD, 2009**).

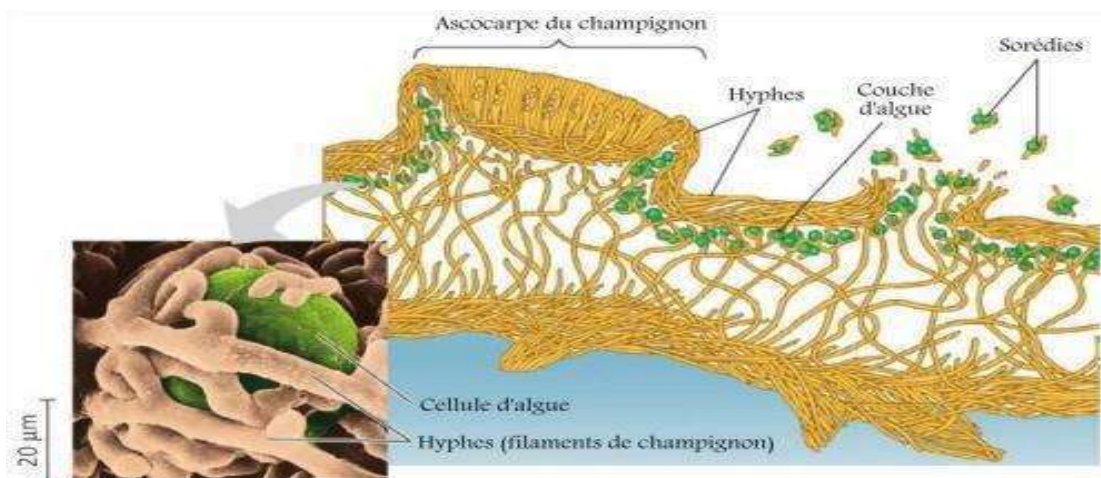


Figure 03: Schéma de la morphologie d'un lichen (Van-Haluwyn, 2009).

On distingue six types morphologiques fondamentaux de thalles lichéniques :

Thalles crustacés :

Escaladé les montagnes les plus hautes, et peuvent s'installer du cercle polaire, jusque sur les
Ils forment une croûte fortement adhérente au substrat dans lequel pénètrent les hyphes de la médulle (pas de cortex inférieur). Plus de 4/5 des lichens ont des thalles crustacés. La plupart d'entre eux sont souvent appelés les microlichens (Gavériaux; J., 2008).



Figure04 : Un thalle crustacé (Gregory et Dimijian, 2003 ; Tiévant, 2001)

- **Thalles foliacés :**

Ils forment des lames le plus souvent lobées, facilement séparable du substrat, plus ou moins appliquées sur celui-ci ou bien plus ou moins redressées, avec la face inférieure le plus souvent garnie de fausses radicelles (rhizines) jouant le rôle de moyen de fixation.

Il existe deux types de thalles foliacés :

Thalles foliacés ombiliqués : exemple : *Umbilicaria polyphylla*.

Thalles foliacés non ombiliqués : exemple : *Parmelia omphalodes* (CLAUZADE et ROUX, 1987).



Figure05 : Thalle foliacé de *Parmelia sulcata* (GAVÉRIAUX J.P., 2012-2014).

- **Thalles gélatineux :**

Ce sont des thalles à cyanophytes (Algues bleues). Leur aspect varie selon l'humidité ;

À l'état sec, leurs thalles sont noirs, rigides et cassants.

À l'état humide, ils s'épaississent, deviennent mous et gélatineux.

Ils sont de morphologie variable, ils peuvent être foliacés, squamuleux, crustacés ou fruticuleux (**Labrerche, 2004**).



Figure06 : Thalle gélatineux (sec) de *Collema flaccidum* (**GAVÉRIAUX J.P., 2012-2014**).

- **Thalles fruticuleux :**

Concerne les thalles formés de petites branches ou cylindres, éventuellement aplatis mais généralement de symétrie typiquement radiaire. Ces thalles peuvent former de petits buissons, dressés ou pendants (**SERUSIAUX, 2004**).

Généralement, se présentent sous forme de touffes pendant au tronc ou aux branches des arbres ou bien des touffes de tiges (**OZENDA, 2000**).



Figure 07: Thalle fruticuleux de *Ramalina farinacea* (**GAVÉRIAUX J.P., 2012-2014**)

- **Thalles squamuleux :**

Le thalle squamuleux typique (par exemple celui de *Psoradeciens*, sont formés de compartiments (squamules) à face supérieure plane ou concave, dispersés ou rapprochés ou contigus ou même imbriqués, avec bord non adhérent au substrat (CLAUZADE et ROUX, 1987). Ces thalles sont incontestablement intermédiaires entre le type crustacé et le type foliacé (SERUSIAUX, 2004).



Figure 08: Thalle squamuleux de *Normandina pulchela* (GAVÉRIAUX J.P., 2012- 2014).

- **Thalles complexes :**

Il est généralement fruticuleux, plus ou moins ramifié et se développe perpendiculairement au substrat. Exemple : *Cladonia* (DUBUIS et FAUREL, 1954).

Ils sont formés de deux parties bien distinctes :

Thalle primaire : plus au moins adhérent au substrat qui peut être de type crustacé, squamuleux ou rarement foliacé.

Thalles secondaires : de type fruticuleux et toujours dressé, qui se développe secondairement sur le thalle primaire, perpendiculairement au substrat.



Figure09 : Thalle composite de *Cladonia floerkeana* (GAVÉRIAUX J.P., 2012-2014).

I-6 : Anatomie et structure des lichens :

Les thalles sont caractérisés par une structure très simple produite par l'algue. Chaque filament est formé d'un filament d'algue entouré d'un réseau d'hyphes fongiques.

Tous les autres types de thalles présentent une structure très différente, et on peut distinguer deux catégories fondamentales de structures.

➤ Structure homéomère :

La répartition des constitutions est assez homogène dans l'épaisseur du thalle mais avec une densité importante près de deux phases. Cette structure caractérisant surtout les thalles gélatineux (**OZANDA et CLAUZADE, 1970**).

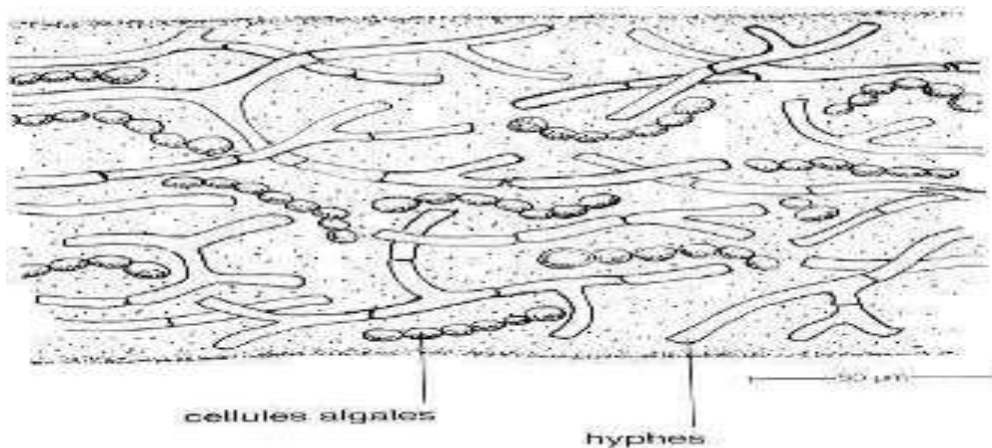


Figure 10: Structure homéomère : coupe transversale du thalle (**Ozenda et Clauzade, 1970**).

➤ Structure hétéromère :

Elle est caractérisée par l'existence de plusieurs couches superposées bien visible sur une section transversale sauf dans la structure filamenteuse. La photosymbiote constitue une zone bien délimitée entre les couches du mycosymbionte. Les couches sont superposées bien visibles sur une section transversale sauf dans la structure filamenteuse (**Singh et Sinha, 1997**).

Deux types de structures sont reconnus :

✓ **Structure radiée :**

Elle existe sur la plupart des thalles fruticuleux et est facilement identifiable sur une coupe transversale par sa couche algale (fermée) entourant la médulle et par la présence d'un seul cortex entourant la couche algale. Exceptionnellement, le cortex manque dans les podétions de certains *Cladonia*, mais nous avons vu que ceux-ci devaient être regardés comme des pédoncules d'apothécies. Chez les Usnées, la médulle se différencie en zone externe constituée d'hyphes lâches, et partie axiale (cordon axial) formé d'hyphes très serrées (**CLAUZADE et ROUX, 1987**).

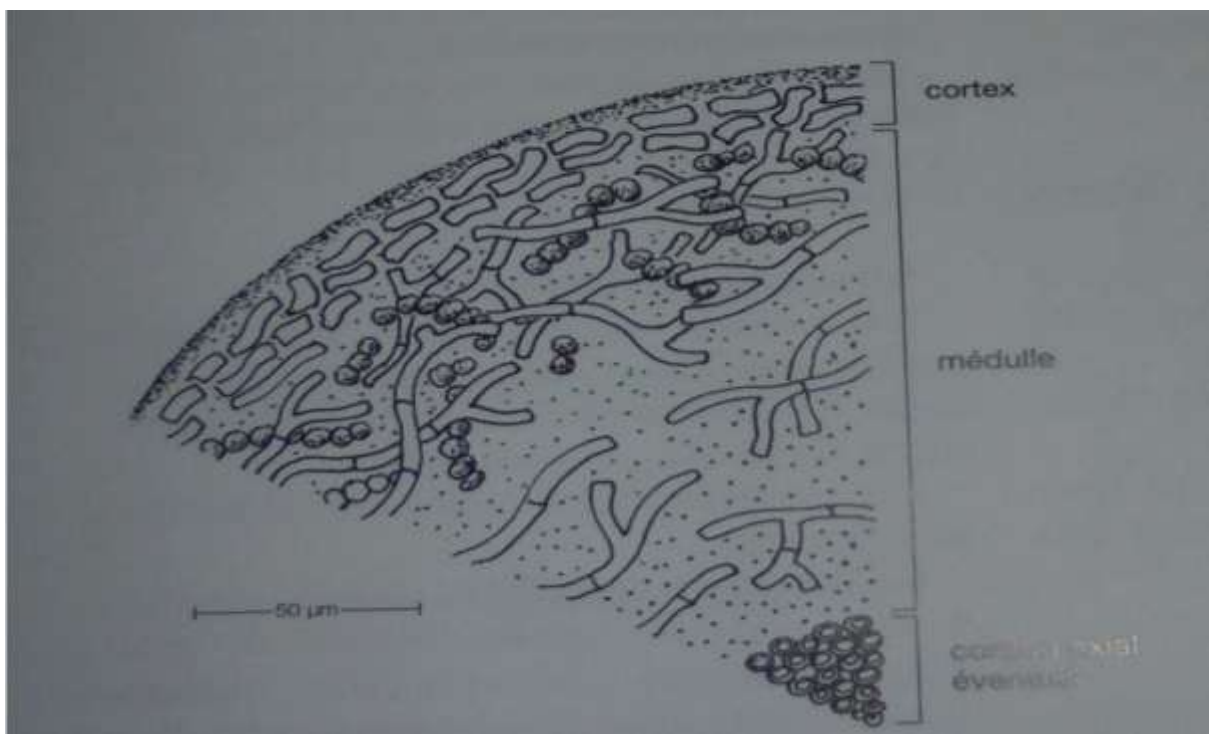


Figure 11: structure hétéromère radiée du thalle (**VAN HALUWYN et LEROND, 1993**).

✓ **Structure stratifiée :**

Dans la plupart des thalles foliacés, chez de rares lichens fruticuleux en lanières (*Evernia prunastri*) et quelques thalles squamuleux ou crustacés, on observe sur une coupe transversale, un cortex supérieur, une couche algale, une médulle, et un cortex inférieur, qui peut donner naissance à des rhizines (**CLAUZADE et ROUX, 1987**).



Figure12: Structure hétéromère stratifiée du thalle (VAN HALUWYN et LEROND, 1993).

I-7 : Organes non reproducteurs portés par le thalle :

I-7-1 : Organes portés par la face supérieure du thalle :

- **Les cils :** Formation filiforme, de teinte habituellement sombre, visible à l'œil nu, constituée par les prolongements de plusieurs hyphes accolés ; se trouve généralement sur les bords du thalle ; lorsque les cils sont bien visibles à l'œil nu, épais et rigides, on les nomme spinules (Gavériaux, 2012-2014).
- **Les fibrilles :** Il s'agit de courtes ramifications filamenteuses du thalle presque égales à 1cm, souvent simple et concolores au thalle.
- **Les papilles :** Elles ont la forme de petits cônes plus ou moins aigus ou arrondis à l'extrémité, visible à la loupe et sont situées entre les fibrilles. On les retrouve sur les thalles des Usnées.
- **Poils :** sont des hyphes plus au moins libres et fines. Parfois incurvées, peuvent se développer à la surface d'un thalle ; elles sont habituellement qualifiées de poils et leur ensemble forme un tomentum. La surface du thalle peut être parsemée, parfois

localement, de petits amas de cristaux blanchâtre et luisants (oxalate de calcium) ; dans ce cas il s'agit de la pruine.

- **Nodules** : Appelés également tubercules, sont simple saillies souvent de forme irrégulière, et toujours moins haute qu'épaisse, sont surtout rencontrées chez les *Usnea* (**OZENDA et CLAUZADE, 1970**).
- **Les céphalodies** : Réunies par des hyphes, donnent des petites formations bien délimitées, en forme de galles à l'intérieur du thalle, d'excroissances ou de verrues à sa surface. Les céphalodies internes ne sont décelables qu'au microscope mais les céphalodies externes sont visibles à l'œil nu ; leur couleur est différente de celle du thalle.

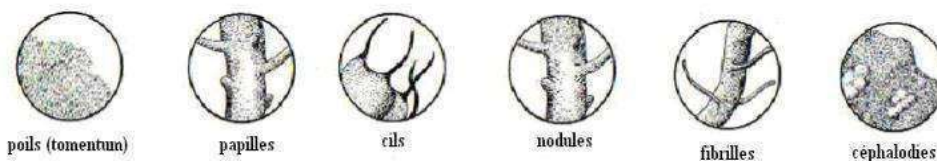


Figure13:Organe de face supérieur du thalle (**Flagey; 1888, Ozenda et Clauzade ; 1970 et Agnes, 2004**).

I-7-2 : Organes portés par la face inférieure du thalle :

- **Les rhizines** : Organes de fixation des thalles foliacés, simple ou ramifiées , groupées ou dispersées, parfois colorées, formées d'un faisceau d'hyphes soudées et recouvertes d'une graine gélatineuse facilitant l'adhésion au substrat . Certaines rhizines, en particulier les rhizines périphériques, ne jouent aucun rôle dans la fixation des thalles ; elles sont dans ce cas souvent appelées rhizomorphes (**Gavériaux, 2012-2014**).
- **veines** : réseau plus au moins saillant, situé à la face inférieure du thalle des *Peltigera* et *Solorina* ; leur répartition, la couleur, la forme, les rhizines ou tomentum qu'elles portent, interviennent souvent pour différencier les espèces (**Gavériaux, 2012-2014**).
- **Les cyphelles** : sont des dépressions, à contour arrondi, du cortex inférieur, rencontrées uniquement dans le genre *Sticta*.

- **Les pseudocyphelles** : ouvertures des cortex supérieure et inférieure laissant apparaître la médulle. Rôle important dans les échanges gazeux avec l'atmosphère.

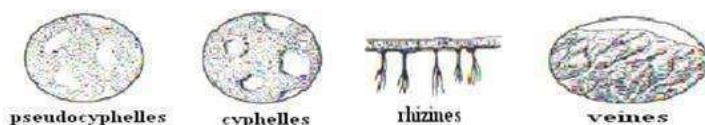


Figure14 : Organes de face inférieure du thalle (Tiévant, 2001).

I.8 : La reproduction chez les lichens :

La reproduction des lichens met en jeu parfois des mécanismes très particuliers. En effet, si les deux partenaires de la symbiose ne se disposent pas ensemble, ils doivent obligatoirement se « retrouver » pour reconstituer le lichen. Or, s'il est à peu près certain que toutes les algues et cyanobactéries que l'on rencontre dans les lichens se développent bien à l'état libre, il n'en est pas de même pour le mycobionte. Celui-ci, pour se développer et a fortiori pour se reproduire et se disperser, doit obligatoirement s'associer avec un photobionte (**CLAUZADE et ROUX, 1987**).

I.8.1. La reproduction végétative :

La reproduction végétative du lichen peut se faire par simple fragmentation du thalle, à la suite notamment de contraintes mécaniques. Les deux partenaires organisent à cette fin des organes végétatifs, ce sont les isidies ou les soralies (**CLAUZADE et ROUX, 1987**).

- **Les isidies** : sont de petites protubérances cortiquées formées à la surface du thalle et qui peuvent s'en détacher. Il n'est pas toujours aisé de distinguer les isidies des petits tubercules ou papilles qui peuvent être présents. (Exemple : *Dichosporidium nigrocinctum*).

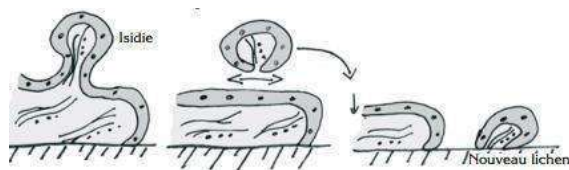


Figure15: Reproduction asexuée par isidies (**Beguinet et al, 1998**).

- **Les soralies** : sont de petites masses farineuses ou granuleuses, elles-mêmes constituées de petits amas comprenant quelques cellules algales entourées d'hyphes. Les soralies peuvent être diffuses, c'est-à-dire qu'elles peuvent apparaître un peu partout sur le thalle, ou bien délimitées. (Exemple : *Lepraria*, *Myeloconis*...).

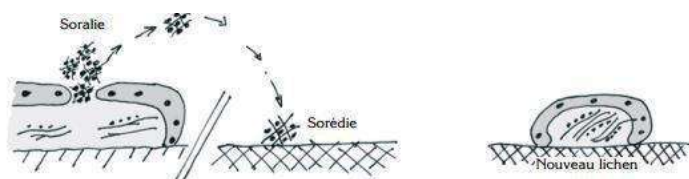


Figure16: Reproduction asexuée par soralies (**Beguinet et al, 2010**).

I.8.2 : La reproduction sexuée :

La grande majorité des lichens appartiennent au groupe des ascomycètes, l'organe contenant les asques est nommé l'ascocarpe ; sa forme et le mode de contact entre le tissu contenant les asques (l'hyménium), celle-ci souvent accompagnées de filaments stériles à extrémité fréquemment épaissie (les paraphyses), et le milieu extérieur permettent la distinction de trois grands types d'ascocarpes : les apothécies, les périthèces et les pycnides.

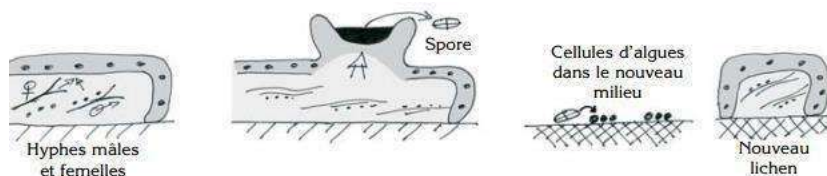


Figure 17 : Mécanismes de la reproduction sexuée (**Beguinet et al, 2010**).

I.9 : Métabolisme des lichens :

Les lichens produisent une large variété de composés organiques divisés en deux groupes principaux : les métabolites primaires et les métabolites secondaires.

I.9.1 : Métabolites primaires :

Regroupent les protéines, les lipides, les polyols, les polysaccharides, les pigments (chlorophylles, xanthophylles, carotènes...) et autres composés organiques intervenant dans le métabolisme et la structure des lichens (**Podterob, 2008 ; Mitrovic et al., 2011**).

I .9.2 : Métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont des substances originales divisées en plusieurs familles et sont principalement responsables de l'aptitude des lichens à se développer dans des conditions extrêmes. Ils représentent en moyenne 5 à 10 % de la masse sèche du thalle (Shukla et al., 2010), et sont généralement excrétés des cellules fongiques pour former des cristaux à la surface du thalle. Ils peuvent également être accumulés au niveau de la médulle, du cortex supérieur ou d'organes spécialisés tels que les fructifications (Oksanen, 2006).

I.9.3 : Voies de biosynthèse des acides lichéniques :

Schématiquement, la biogénèse des substances lichéniques implique trois voies (VAN HALLUWYN et LEROND, 1993) :

I.9.3.1. Voie de l'acide mévalonique :

Conduite essentiellement à la synthèse de mono-, di-, tri-, sester-, et sesquiterpènes, stéroïdes et caroténoïdes. Pour la plupart, ils ne sont pas spécifiques des lichens et sont issus de l'assemblage d'unités isopréniques formées à partir de l'acétyl-coenzyme A (acétyl-CoA).

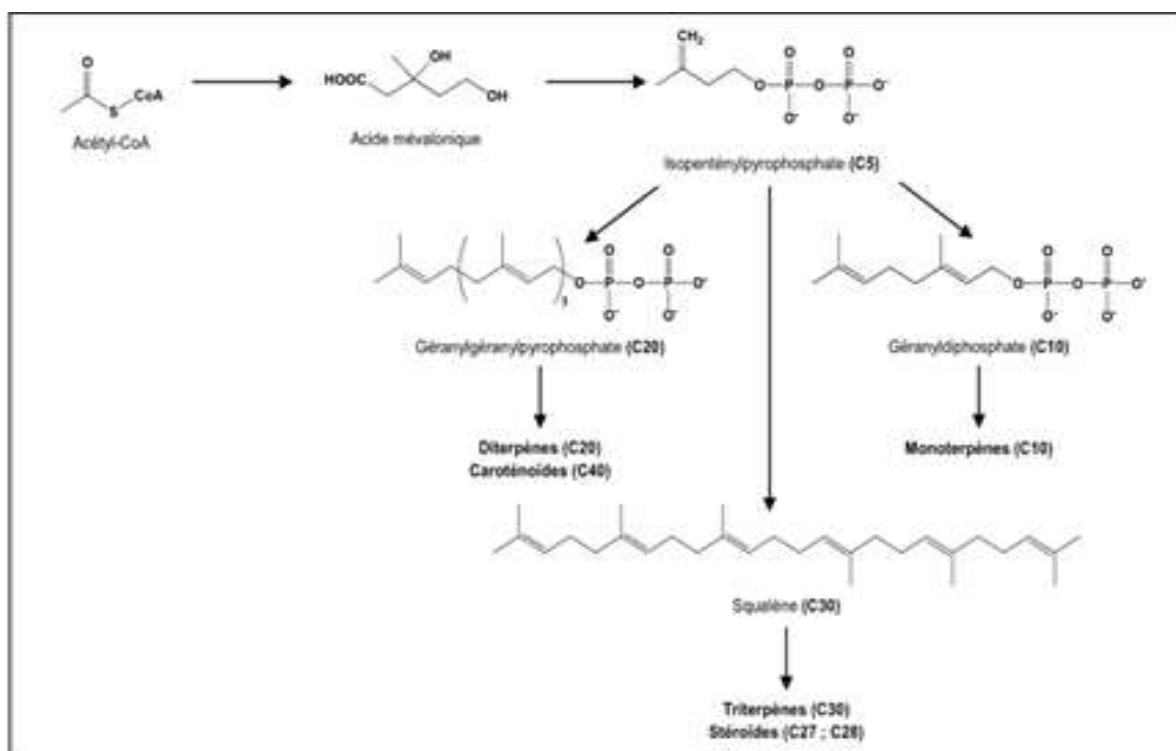


Figure18: Structure des précurseurs des composés de la voie de l'acide mévalonique (Andraud-Dieu, 2015).

I.9.3.2. Voie de l'acide shikimique :

Permet la synthèse d'acides aminés aromatique (phénylalanine, tyrosine, tryptophane) qui chez les plantes, sont les précurseurs des flavonoïdes, des coumarines, ou encore des alcaloïdes. La phénylalanine serait le précurseur, via la formation d'acide polyporique, de l'acide pulvinique dilactone.

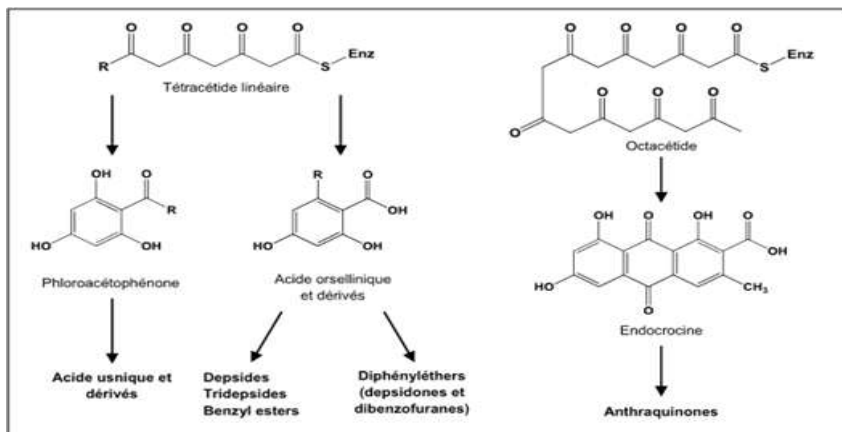


Figure 19 : Structure chimique de l'acide shikimique, de la phénylalanine et des composés dérivés de l'acide pulvinique (Andraud-Dieu, 2015).

I.9.3.3. Voie acétate-malonate :

Cette voie est répartie dans environ 13 classes chimiques différentes (les composés aromatiques). La molécule associée à cette voie dérive de l'accumulation d'un composé issu du métabolisme primaire : l'acétyl-CoA.

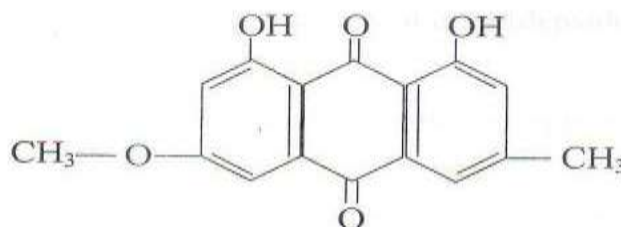
✓ Composés aromatiques :

L'acide usnique et ses dérivés, les dépsides, les dépsidones, les depsones, les dibenzofuranes, les dibenzoquinones, les anthraquinones, les xanthones, les naphthoquinones, et les chromones.

- **L'acide usnique:** L'acide usnique est le métabolite lichénique le plus commun et le plus étudié. Il est issu du couplage oxydatif entre deux molécules de méthylphloroacétophénone. La voie de biosynthèse proposée, sous contrôle enzymatique, implique la méthylation du tétracétide avant cyclisation pour former la méthylphloroacétophénone, suivie d'un mécanisme radicalaire conduisant à la cyclisation et la formation de l'acide hydro-usnique. Enfin, une étape finale de

déshydratation permettrait l'obtention d'acide usnique) (Taguchi et al., 1966, DIEU A., 2015).

- **Les anthraquinones** : sont des pigments produits par les hyphes du cortex supérieur, ils sont responsables de la couleur des fructifications (Apothécies), sont colorés en jaune orangé ou rouge, et deviennent pourpres foncés sous l'action de la potasse. Ils sont produits par les lichens appartenant à la famille des Teloschistaceae



Pariétine

Figure 20 : structure chimique de la pariétine

- **Les depsides** : constituent le plus grand groupe de substances lichéniques aromatiques, ils sont issus du couplage entre deux ou trois unités d'acide orsellinique par estérification du groupement carboxylique d'une molécule avec le groupement hydroxyle d'une seconde molécule. Le groupement hydroxyle peut être en para ou en méta du deuxième noyau d'où la nomenclature de para- et méta-depsides (Culberson et Elix, 1989).
- **Les depsidones** : issues de la transformation de l'acide pulvinique, sont caractérisées par leur structure moléculaire complexe, comprenant notamment des cycles aromatiques et des liaisons éther.
- **Dérivés de dibenzofuranes** : le plus répandu est l'acide usnique qu'on trouve non seulement chez *Usnea*, mais chez plusieurs dizaines d'espèces de lichens. Tous les dérivés de dibenzofuranes sont incolores sauf l'acide usnique est jaune clair
- **Les chromones** : Les chromones dérivent de la cyclisation de pentacétides linéaires ; elles ne sont pas propres aux lichens et peuvent être retrouvées par exemple dans certains microorganismes endophytes (Andrioli et al., 2012, DIEU A., 2015).

✓ **Acides aliphatiques et lactones :**

Acide capératique, acide roccellique et acide protolichestérique.

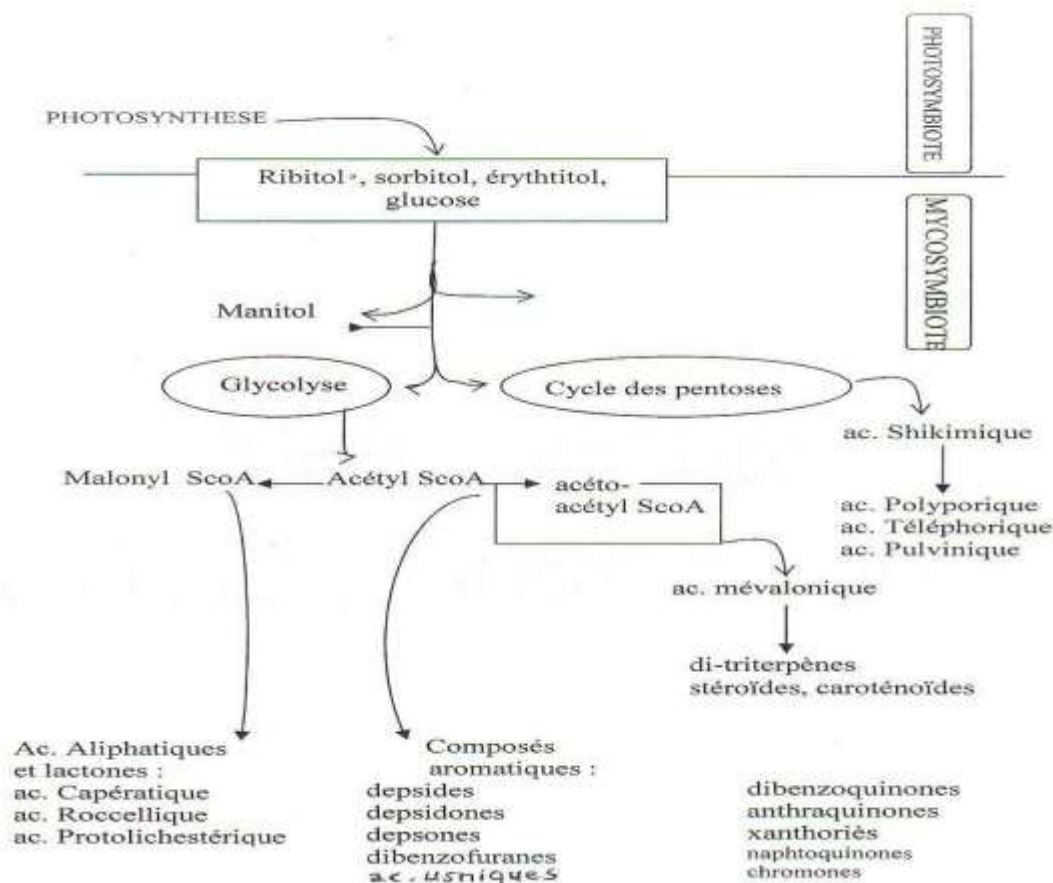


Figure21: Biogénèse des substances lichéniques (Van Haluwyn et Lerond, 1993).

I.9.4 : Les rôles des substances lichéniques :

Peuvent jouer un rôle important dans les mécanismes de défense contre les agressions extérieures. Notamment certains métabolites tels que les anthraquinones, pourraient agir comme pigments accessoires, permettant en condition de faible luminosité de capter l'énergie solaire ou à l'opposé, de protéger l'organisme contre les effets nocifs induits par les radiations solaires (Fahselt D., 1994).

Outre leur rôle comme agents protecteurs contre les stress physiques, les métabolites secondaires interviennent dans les mécanismes de défense dirigés contre divers organismes. Par exemple, les terpènes et les dibenzofuranes possèdent des propriétés antibactériennes et antifongiques (Rowe ; J. G. ; et al., 1991).

Les depsidones possèdent des propriétés biologiques diverses telles que des activités antimicrobiennes, antivirales ou antifongiques, contribuant ainsi à la protection des lichens contre les agressions extérieures.

Tableau 1 : Récapitule ces différentes voies de biosynthèse décrites dans la littérature pour les composés secondaires lichéniques.

Voie de biosynthèse	Type de composé	Nombre de composés
Acide mévalonique	Di-, sesqui-, et tri-terpènes	88
	Stéroïdes	33
Acetate polymalonate	Anthraquinones et dérivés	52
	Xanthones et bis-Xanthones	78
	Chromones et Chromones	13
	Acide aliphatiques	56
	Depsones	8
	Depsidones et diphényléthers	131
	Dibenzofuranes, acide usnique et dérivés	29
	Monoaromatique phénoliques	32
Depsidés, tridepsidés et benzyl esters	207	
Acide shikimique	Terphénylquinones	2
	Dérivés de l'acide pulvinique	13

I.10 : Les usages des lichens :

I.10.1. Usages alimentaires :

Il existe de nombreuses références régionales de l'utilisation de lichens comme aliments.

Un petit nombre d'espèces seulement sont utilisées dans la pratique. Elles doivent leur pouvoir nutritif à la lichénine, susceptible de libérer par hydrolyse du glucose au cours de la digestion.

Dans l'alimentation humaine, seul *Cetraria islandica*, dit « mousse d'Islande » qui est utilisé sous forme de farine, et pour la confection des gelées. On a tenté de l'utiliser également dans la fabrication de pain pour diabétiques.

Dans l'alimentation des animaux, jouent un rôle important dans la nutrition des mammifères alpins notamment chez le Chamois et Bouquetin. Mais c'est essentiellement dans la nutrition du Renne et son homologue nord-américain le Caribou.

Les deux espèces *Cladonia rangiferina* et *Cetraria islandica*, ont été utilisées dans les pays nordiques pour nourrir les porcs, des chevaux et des vaches ; ils comprennent en moyenne 60 % de glucides et 1 à 5 % de protéines (OZENDA, 2000).

I.10.2. Usages médicaux :

Le lichen des murs ou la parmélie des murailles (*Xanthoria parietina*) fut employée comme succédané du quinquina grâce à la présence d'un principe amer : La chrysopicrine.

Le principal intérêt des lichens en médecine semble être actuellement la possibilité d'en extraire des antibiotiques, *Lobaria pulmonaria* avait la réputation de soigner les maladies de poitrine, les longs filaments d'*Usnea* d'avoir une action sur la croissance des cheveux. *Peltigera canina* doit son nom à ce qu'il était employé contre la rage.

Certains lichens contiennent des corps légèrement toxiques, peuvent avoir en particulier une action sur le tube digestif et c'est sans doute pour cela que diverses espèces ont été autrefois utilisées comme purgatifs. **EX** : *Letharia vulpina* à cause de l'acide vulpinique.

I.10.3. Usages industriels :

Les huiles essentielles de certains espèces de lichens (**ex** : *Evernia prunastri*, *Parmelia furfuraceae*..) sont utilisées pour la fabrication de parfums et de savons .Les lichens sont également connus pour la fabrication artisanale de teintures.

Enfin, d'autres utilisations telles que la décoration des tables, la confection des maquettes (où ils représentent des arbres) et celles de couronnes funéraires sont courantes dans certains pays.

I.10.4. Usages en bio-indication :

De nombreuses espèces de lichens ont une écologie très précise, de sorte que leur présence est susceptible de donner des indications sur les caractères physiques et chimiques du milieu considéré. L'utilisation des lichens permet donc d'étudier, par exemple, la chimie et la stabilité des sols, la hauteur moyenne de l'enneigement (certaines espèces ne supportent pas l'humidité permanente due à la couverture nivale), le degré de pureté de l'atmosphère.



Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1 : Matériel animal (Le *Tribolium confusum*)

II.1.1 : Systématique :

Le *Tribolium confusum* est classé comme suit : (Duval, 1868) :

Tableau 02 : classification systématique de *Tribolium confusum*

Règne	Animalia
Sous-règne	Bilateria
Infra-règne	Protostomia
Embranchement	Arthropoda
Super-embranchement	Ecdysozoa
Sous-embranchement	Hexapoda
Classe	Insecta
Sous-classe	Pterygota
Infra-classe	Neoptera
Superordre	Holometabola
Ordre	Coleoptera
Sous-ordre	Polyphaga
Infra-ordre	Cucujiformia
Superfamille	Tenebrionoidea
Famille	Tenebrionidae
Genre	Tribolium
Espèce	<i>Tribolium confusum</i>

II.1.2. Caractères généraux :

Le *Tribolium* est un insecte ravageur commun connu pour attaquer et infester les denrées alimentaires stockées notamment la farine et les grains de céréales, dans les silos, les entrepôts, les boulangeries, les épiceries. Il est appelé aussi le petit ver de la farine, le ver brun de la farine. C'est une espèce d'insectes coléoptères de la famille des Ténébrionidés, à répartition cosmopolite.

Comme tous les coléoptères, le tribolium possède deux paires d'ailes, la paire antérieure (élytre) joue un rôle d'une armure. Cette carapace protège les ailes postérieures membraneuses repliées en dessous. Il se déplace activement quand il est dérangé.



Figure22: *Tribolium confusum*

II.1.3. Origine et répartition :

L'espèce est probablement originaire d'Afrique mais a acquis une répartition cosmopolite, avec une préférence pour les climats tempérés à chauds, il est très abondant dans les régions tropicales. Il existe là où les céréales stockées existent sous forme de graines ou de farines. Elle a été signalée en Europe pour la première fois en 1900 en Tchécoslovaquie.

II.1.4. Morphologie :

Le Tribolium adulte est un petit insecte d'une longueur de 2,2 à 4,4 mm, et au corps allongé de couleur brun rougeâtre brillant, l'appendice prosternal est nettement élargi à l'apex. Les antennes se terminent en massue composée de cinq articles. L'insecte est très proche morphologiquement de *Tribolium castaneum* (Tribolium rouge de la farine).

Chez *Tribolium confusum*, la massue antennaire est plus graduellement élargie, l'espace entre les yeux est plus large (environ 50% de la largeur de la tête). Les yeux comportent seulement deux facettes à leur point le plus étroit. Les yeux, oblongs, mesurent en moyenne 0.6 x 0.3 mm. Ils sont de couleur blanchâtre, presque transparent. Ils sont recouverts d'une substance visqueuse qui leurs permet de s'adhérer aux denrées infestées.

II.1.5. Description des différents stades de développement de *Tribolium confusum* :

L'œuf : (A) il est oblong et blanchâtre presque transparent. Sa surface est lisse recouverte d'une substance visqueuse qui lui permet d'adhérer à la denrée infestée il mesure en moyenne 0.6 x 0.3mm (**Lepesm, 1944 in Benazzedine, 2010**).

La larve : (B) La larve L1 est de couleur blanche, elle mesure à peine 1,4mm, elle passe ensuite par différents stades larvaires différenciés par la taille et la couleur, la tête et l'appendice fourchu situé à l'extrémité de l'abdomen étant nettement plus foncés, particularité qui permet de distinguer les larves et les nymphes de *Tribolium* des larves d'autres coléoptères infestant les grains (**Lepesme, 1944 in Benazzedine, 2010**).

La nymphe : (C) elle est blanche et nue ; les segments de son abdomen sont explantés latéralement en lames rectangulaires à bords crénelés (**Balachowsky, 1936 in Benazzedine, 2010**). La nymphe reste sans protection et est incapable de se déplacer.

L'imago (adulte) : (D) L'imago est de couleur claire. L'adulte est un coléoptère de couleur brun rouge dont la longueur varie de 3 à 5 mm. Les antennes sont nettement épaissies vers leurs extrémités. Les élytres sont allongés et munies de séries de points bien nets. Chaque inter strie porte en son milieu une fine cote longitudinale ceci différencie les autres genres de la sous famille. Les 3 paires de pattes sont courtes, attachées aux segments suivant immédiatement la tête.

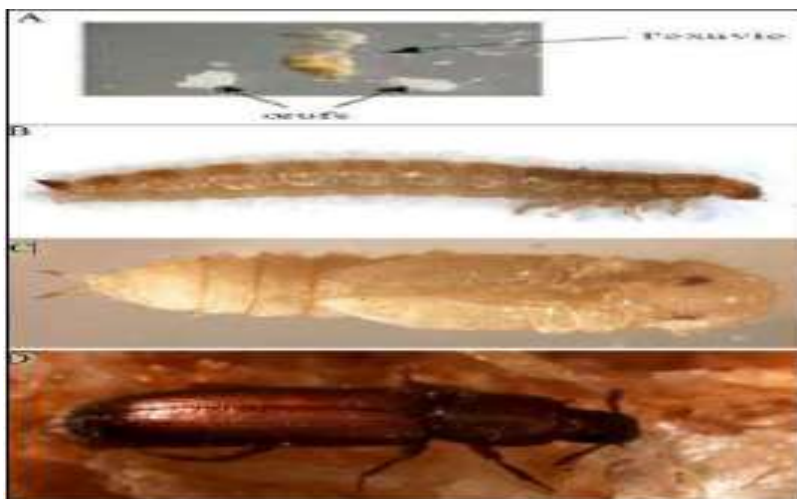


Figure 23: cycle de développement de *Tribolium confusum*

II .1.6.Les dégâts causés par le Tribolium :

Le *Tribolium brun* attaque les grains endommagés ou brisés. Il est présent dans la farine, la poussière et les impuretés. Ce coléoptère cause des dégâts en s'alimentant mais probablement davantage en contaminant les grains, par les cadavres d'insectes, les mues et pelotes fécales, ainsi que des liquides (quinones), et en donnant une mauvaise odeur aux denrées infestées. Cela peut entraîner une mauvaise acceptation des aliments par le bétail et le rejet par les acheteurs de grains.

L'infestation par les triboliums favorise le développement de moisissures qui contribuent à réduire considérablement la qualité et la valeur du grain. Les larves peuvent consommer les œufs, les nymphes et les adultes immatures (Anonyme, 2001).



Figure24 : Dégâts de tribolium sur la semoule fine(HAMIDOUCHE ,2021).

II.2 .Matériel végétal

II.2.1.Présentation du site du prélèvement :

La récolte de l'espèce lichénique, *Xanthoria parietina* a été effectuée au moins de mars 2023 à Darna , qui est une zone de montagne dépassant les 1000 m d'altitude, présente un couvert végétal important.

II .2.2. Description de l'espèce récoltée *Xanthoria parietina*:

Xanthoria parietina est un lichen d'assez grande taille, dont le diamètre des thalles Individuels dépasse rarement 8cm, mais peut exceptionnellement atteindre une 15 cm. L'espèce peut toutefois occuper des surfaces considérables, de nombreux thalles pouvant coexister sur un même support, voire conflué en plaques étendues (Smith et al., 2009). Il s'agit d'une espèce foliacée dont les lobes, disposés en rosette, sont le plus souvent appliqués sur le substrat. L'extrémité des lobes est large et arrondie. Les rosettes ont parfois

un aspect plissé, en particulier chez les exemplaires âgés. La face inférieure du thalle est blanchâtre et comporte quelques rhizines (fausses radicelles, issues de la soudure de poils, fixant le thalle à son support).

La couleur de ce lichen varie du jaune à l'orangé. Cette coloration est due à la présence dans le cortex d'une substance sécrétée par le champignon, la pariétine, un composé de la famille des anthraquinones, L'intensité de cette coloration est très variable, et l'on observe parfois, surtout à l'ombre, des thalles plus ternes, d'un gris-vert sans trace apparente de jaune(Smith et al., 2009).



Figure25 : espèce *Xanthoria parietina* observé à la loupe en grossissement x 100(Originale,2022)

II .2.3 : Classification du *Xanthoria parietina*(Clauzade et Roux, 1987 ; Ozenda et Clauzade, 1970).

Règne :Fungi

Division :Ascomycota

Sous-embranchement :Pezizomycotina

Classe :Lecanoromycetes

Ordre :Teloschistales

Famille : Teloschistaceae

Genre : Xanthoria

Espèce : *Xanthoria parietina*

II.2.4. Paramètres écologiques:

Le lichen *Xanthoria parietina*, indicatif d'habitats riches en éléments nutritifs.

c'est une espèce très fréquente, ornithocrophile .

c'est une espèce tolérante à la pollution atmosphérique « Poléotolérante » .

C'est une espèce nitrophile, elle affectionne particulièrement les substrats riches en azote.

Réactions colorées: K+ Rouge Pourpre

II.3 : La méthodologie :

II .3.1 : la récolte et choix de l'espèce lichénique :

L'espèce choisie *Xanthoria parietina* a été récolté eu mois de mars de l'année 2023 ,au niveau de la forêt de Darna , située au sud-est de la ville de Tizi-Ouzou à une altitude de 1000m.

parietina (originale ,2023)

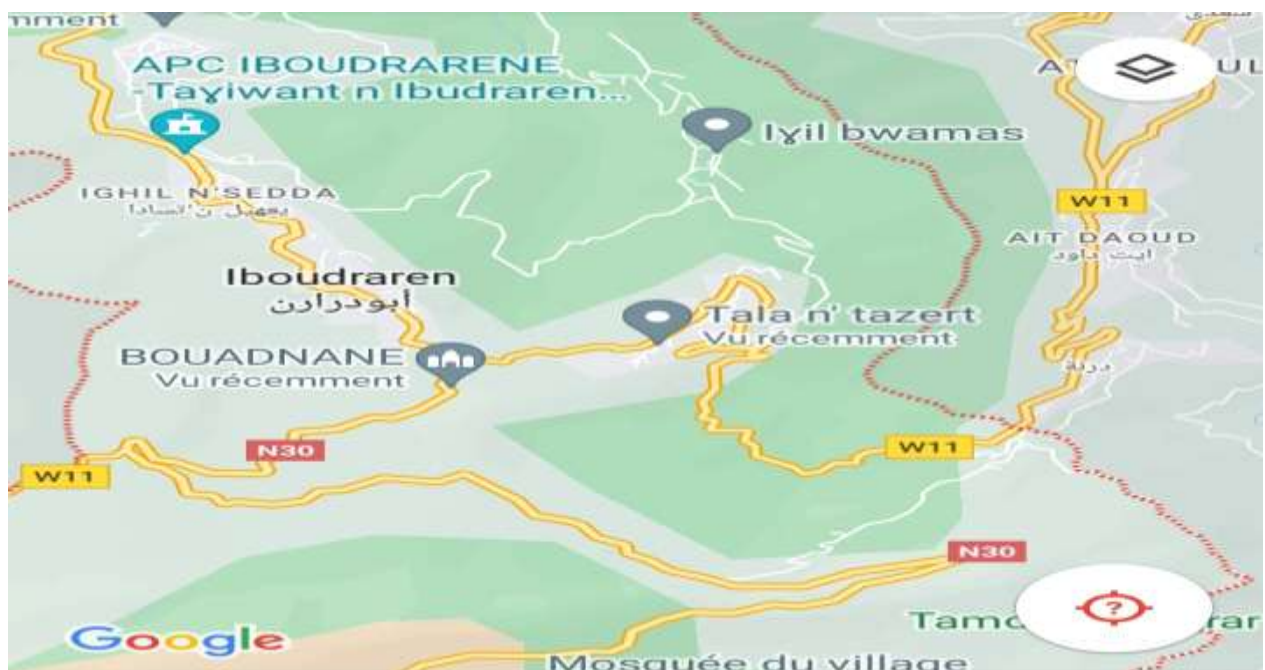


Figure 27: Localisation de la forêt de Darna (Google Maps ,2023)

II.3.2 : la préparation du matériel végétal :

- ❖ **Séchage :** l'espèce récolté de *Xanthoria parietina* a été soigneusement nettoyée, débarrassé de tout artefacts (mousses, poussières, support.....etc.) puis séchée à l'air libre à température ambiante pendant 72h.
- ❖ **Broyage :** le lichen séché est broyé en poudre fine à l'aide d'un mortier. Cette étape permet de faciliter et d'augmenter la surface de contact de l'espèce lichénique avec le solvant et ainsi permet de favoriser l'extraction des composés.

II.3.3 :L'extraction des substances lichéniques:

L'extraction de substances lichéniques a été réalisée par macération .Cette méthode consiste à laisser la poudre de la plante en contact prolongé avec un solvant .Le choix du solvant est orienté par les caractéristiques chimiques spécifiques pour chaque famille de métabolites secondaires L'acétone est classiquement utilisé pour l'extraction des métabolites secondaires lichéniques , l'extraction peut être effectuée à température ambiante pendant plusieurs heures .Le choix de réaliser les extractions à température ambiante a été fait, dans le but d'éviter la dégradation potentielle de certains composés (notamment des depsides, sensibles à la chaleur) (Vila et al., 2011).

➤ Le principe :

consiste à faire imprégner 0,3 g de la poudre lichénique dans un volume de solvant (acétone) afin de préserver l'intégrité des substances .

L'extraction à été répétée quatre fois afin d'extraire un maximum de métabolites, c'est à dire jusqu'à l'obtention d'un extrait incolore.

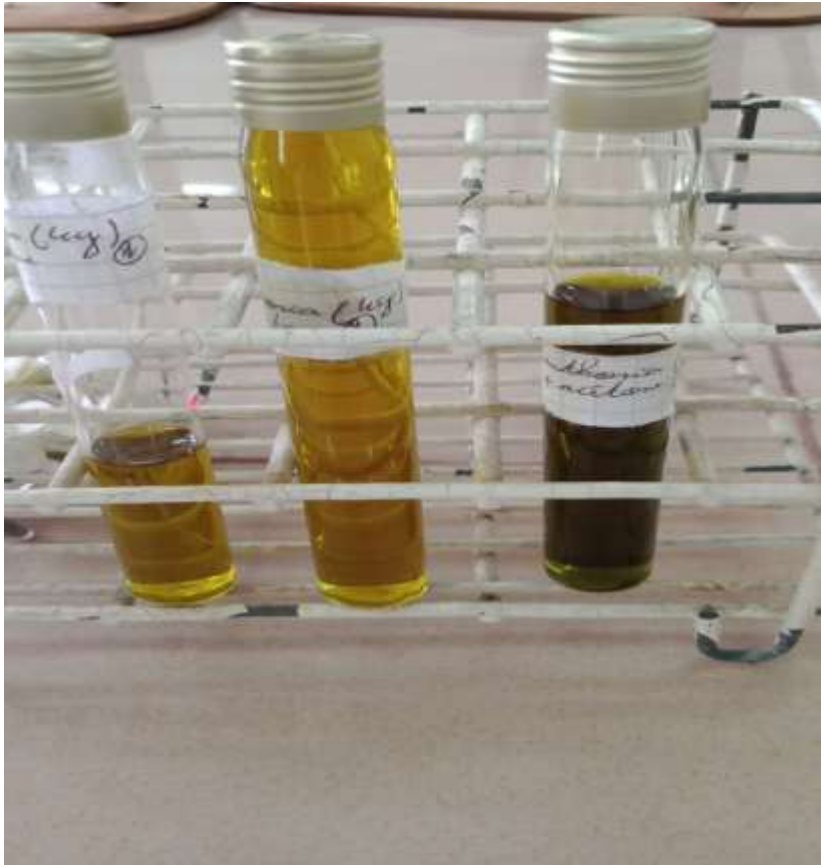


Figure28 :l'obtention d'un extrait lichénique avec de l'acétone (photo originale,2023)

II .3.4.Activité bio-insecticide de la poudre lichénique du *xanthoria parietina* :

Le but de cette partie de notre étude est d'évaluer dans des conditions de laboratoire, l'activité insecticide de la poudre lichénique de *xanthoria parietina* sur un ravageur de denrées stockées , *Tribolium confusum*.

Dans des boîtes de pétri, nous avons mélangé 50g de semoule avec différentes doses de poudre lichénique du *Xanthoria parietina*. Les doses additionnées à la semoule sont de l'ordre de 4, 6, 8, 12 g.

Une boîte de pétri témoin fut préparée avec seulement la semoule , sans l'addition de la poudre lichénique .Sur chacune des boîtes de pétri , nous avons introduit 20 individus adultes de *Tribolium confusum*. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque dose.

Un comptage d'individus morts est effectué chaque jour pendant une semaine. Les insectes morts sont éliminés de la boîte tous de chaque comptage.



Figure 29: traitement de semoule avec différentes doses de la poudre lichénique de *Xanthoria parietina* contre le ravageur *Tribolium confusum* (photo originale, 2023)

II.4. Chromatographie sur couche mince « CCM » :

II.4.1. Mode opératoire de la chromatographie sur couche mince :

Cette analyse chromatographique nous permet d'identifier le profil chimique de notre espèce « *Xanthoria parietina* ».

➤ **Préparation de la cuve :**

- dans une cuve, nous avons introduit un mélange de solvant (phase mobile).
- Pour notre test chromatographique nous avons utilisé deux systèmes de solvant :
- ✓ **Le 1^{er} CCM :** la phase mobile contient : 130ml d'hexane +80ml diethylther +20ml d'acide formique.



Figure 30 :chromatographie réalisée au laboratoire (130 ml Hexane +80ml Diethylether +20ml acide formique) (photo originale,2023) .

- ✓ **Le 2^{ème} CMM** : la phase mobile contient : 70ml de toluène +20ml d'acide formique.

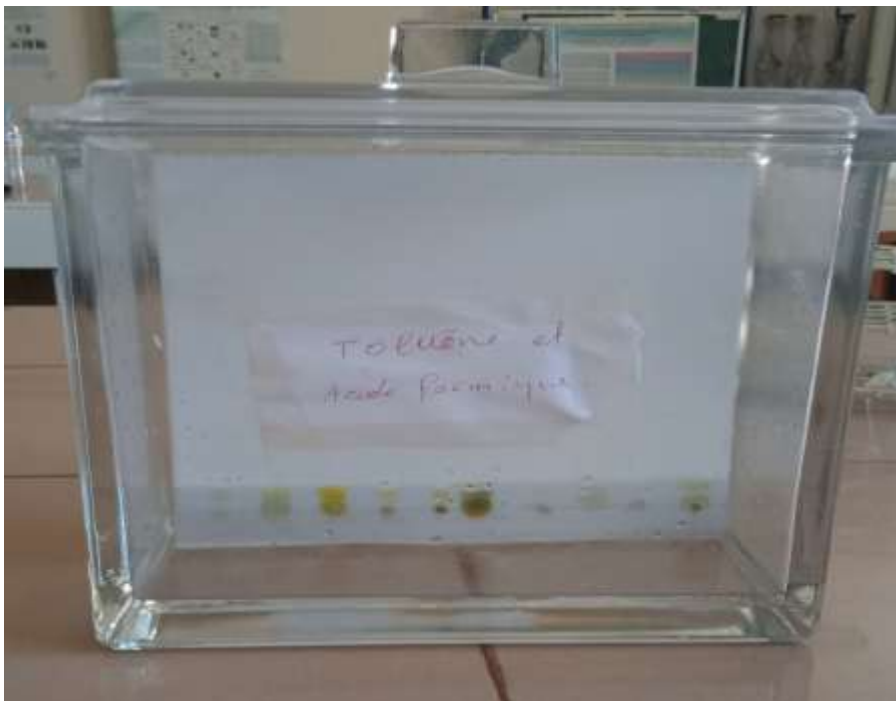


Figure 31:chromatographie réaliser au laboratoire (70 ml Toluène + 20ml d'acide formique)(photo originale,2023).

➤ **Préparation de la plaque de chromatographie :**

- nous avons tracée au crayon un trait de départ à 2 cm du bas de la plaque.
- sur ce trait, tracer des petits points à 1 cm de distance où seront déposées les taches.
- À l'aide d'une micropipette, nous avons mis cinq gouttes pour chaque extrait lichénique, un pour l'acétone et l'autre pour l'hexane.

-Nous avons laissé la plaque chromatographie dans la cuve (mise au contact de la phase mobile) environ 40 min.

- après avoir sortie la plaque afin d'une fixation à l'aide d'un révélateur qui constitué de H₂SO₄ (10%). Cette plaque ensuite séchée pendant 15min à l'étuve à une température de 100C°.

-Après séchage, une large gamme de couleur de lumière visible apparait, sont des taches colorées qui correspondent à la présence des molécules dans les échantillons.

II.5.Dosage des Polyphénols totaux:

Le dosage des Polyphénols totaux est réalisé par la méthode de Folin-ciocalteu

➤ **Principe :**

Le réactif de Folin-Ciocalteu constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃W₁₂O₄₀) et de phosphomolibdique(H₃PMo₁₂O₄₀) est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes blues de tungstène(W₈O₂₃) et de molybdène(MO₈O₂₃)

Cette coloration bleu dont l'intensité est proportionnelle au taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 760nm.

➤ **mode opératoire :**

Mettre 20 µl de chaque extrait de *xanthoria parietina* des tubes à essais ; ajouter 1.58 ml d'eau distillée et 100 µl de réactif de Folin-Ciocalteu dilué dans H₂O distillée (v/v) dans chaque tube ; agiter vigoureusement puis laisser agir 6 min avant d'ajouter 300 µl de carbonate de sodium à 7.5%.

Après 2 heures d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière, lire les absorbances à partir du spectrophotomètre UV-visible (Spectronic 20 Genysis TM) à 760 nm. Effectuer la même opération pour l'acide gallique à différentes concentrations en introduisant 20 µl de ces dernières dans une série de tubes et ajout des autres réactifs.

Le blanc est représenté par l'éthanol additionné du Folin-Ciocalteu, de l'eau distillée et de carbonate de sodium.

Les concentrations des polyphénols totaux contenus dans les extraits de *xanthoria parietina* sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard.

II.6.La microcristallisation :

Cette méthode ,dite D'ASAHINA ,consiste à faire cristalliser les substances lichéniques présentes dans un échantillon de lichen à étudier ,à l'aide de réactifs particuliers, qualifiés de réactifs cristallogènes .

Des cristaux caractéristiques de la substance lichénique se forment et sont observés entre polaroïds croisés avec un microscope équipé d'un système de polarisation (Gavériaux;2003) .

➤ Mode opératoire:

- _ Régler la plaque chauffante à environ 40°-50°C
- _Déposer au milieu de la lame quelques gouttes de l'extrait lichénique obtenu par l'acétone.
- _On rajoutons une goutte de réactif cristallogènes sur le dépôt (GE ou GAW) .
- _Pose sur cette goutte une lamelle .
- _Déposer la lame sur la plaque chauffante pendant quelques minutes (Pour le GE et GAW nous pouvons laisser la lame 10min) .
- _Refaire le même chose pour l'extrait lichénique obtenu par l'hexane.
- _Puis enlevé la lame de la plaque et lutter avec du vernis à ongles transparent pour la lamelle ne doit pas bouger pendant l'opération.
- _Passer à l'observation des cristaux à des grossissement de $\times 400$,en lumière polarisée.

A decorative graphic of a scroll, oriented horizontally. The scroll is white with a thin black outline. It has a vertical strip on the left side, suggesting a binding or spine. The top and bottom edges are rounded. At the top-left and top-right corners, there are small, grey, semi-circular elements that look like the ends of rolled-up paper.

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Résultats de l'activité bio-insecticide de la poudre lichénique de *Xanthoria parietina* :

Les résultats obtenus après la mise en contact des insectes (*Tribolium confusum*), avec la poudre lichénique de *Xanthoria parietina* après différentes heures d'exposition allant des 24h jusqu'à 168h sont mentionnés dans les tableaux suivants :

Tableau 03: le taux de mortalité pour la dose 0g (témoin) :

heures	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h
nombre des individus morts	0	0	1	2	1	2	1

Tableau 04: le taux de mortalité en % pour la dose 0g :

Heures	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h
% de mortalité	0%	0%	5%	10%	5%	10%	5%

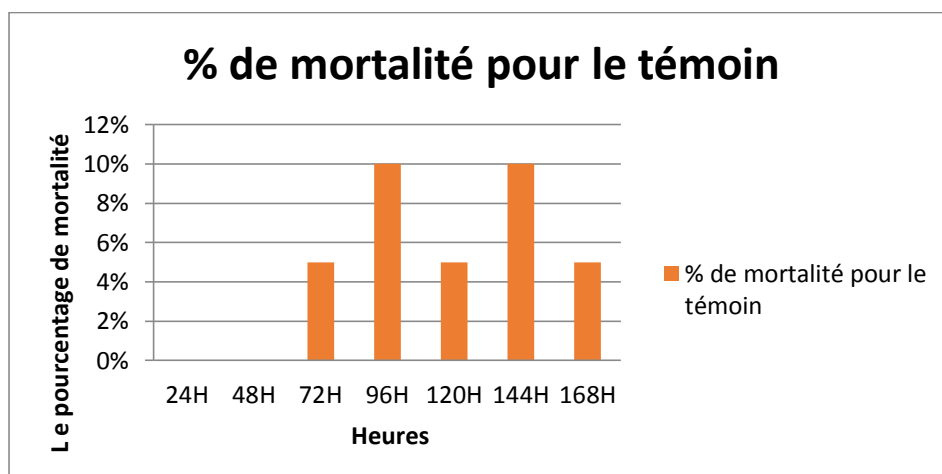


Figure32: histogramme de mortalité en % en fonction du temps pour le témoin.

La figure représente un histogramme du taux de mortalité en pourcentage(%) en fonction du temps (heure) pour le témoin (0g).

Le taux de mortalité est nul dans les premières 48h, puis il y a une légère augmentation au bout des 72h jusqu'à 168h, nous avons que 7 individus qui sont morts, les autres restent vivant et se reproduisent.

Tableau 05 : le taux de mortalité pour la dose 4g :

heures	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h
nombre des individus morts	0	1	2	2	3	1	4

Tableau 06 : le taux de mortalité en % pour la dose 4g :

heures	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h
% de mortalité	0%	5%	10%	10%	15%	5%	20%

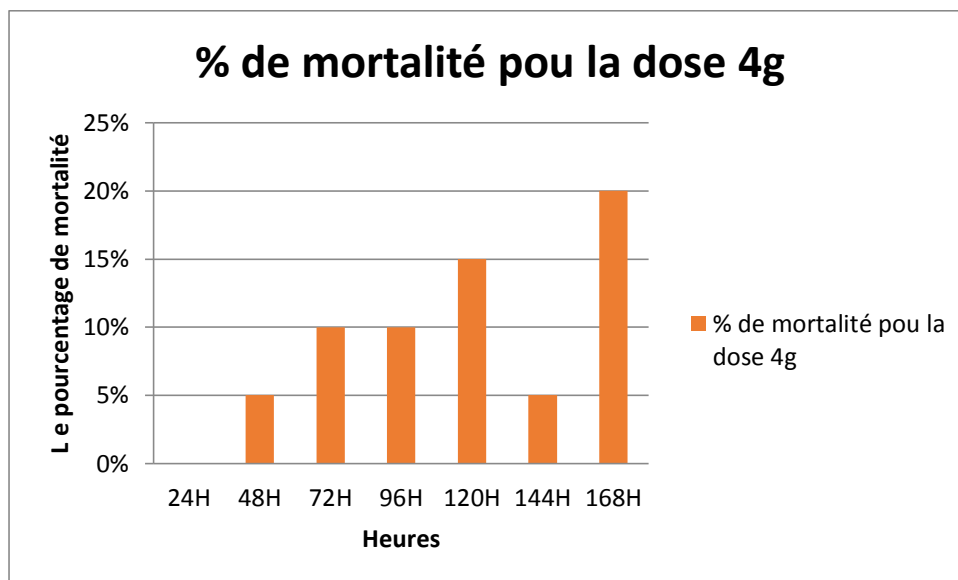


Figure 33: histogramme de mortalité en % en fonction du temps pour la dose 4g

La figure représente un histogramme du taux de mortalité en pourcentage en fonction du temps pour la dose 4g.

Dans les 24H nous n'avons enregistré aucune mortalité

En effet, nous remarquons une augmentation de taux de mortalité et des valeurs comprises entre 5% et 20% de mortalité, dès les 48H heures jusqu'à 168h.

Tableau 07: le taux de mortalité pour la dose 6g :

heures	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h
nombre des individus morts	0	1	2	4	3	1	5

Tableau 08 : le taux de mortalité en % pour la dose 6g :

heures	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h
% de mortalité	0%	5%	10%	20%	15%	5%	25%

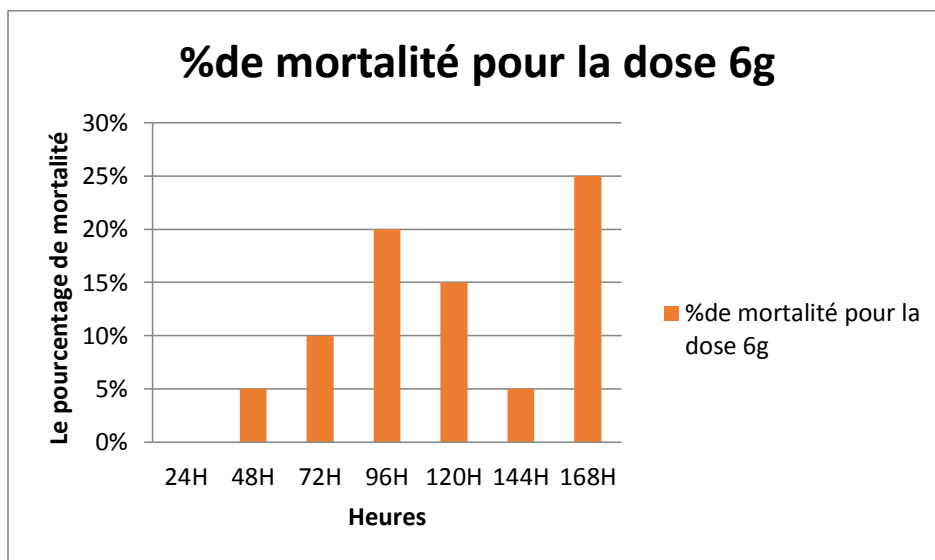


Figure34 : histogramme de mortalité en % en fonction du temps pour la dose 6g

La figure représente un histogramme du taux de mortalité en pourcentage en fonction du temps pour la dose 6g.

Dans les 24H nous n'avons enregistré aucune mortalité

En effet, nous remarquons une augmentation de taux de mortalité et des valeurs comprises entre 5% et 25% de mortalité, dès les 48H heures jusqu'à 168h.

Tableau 09 : le taux de mortalité pour la dose 8g :

heures	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h
nombre des individus morts	1	2	1	2	3	4	5

Tableau 10 : le taux de mortalité en % pour la dose 8g :

heures	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h
% de mortalité	5%	10%	5%	10%	15%	20%	25%

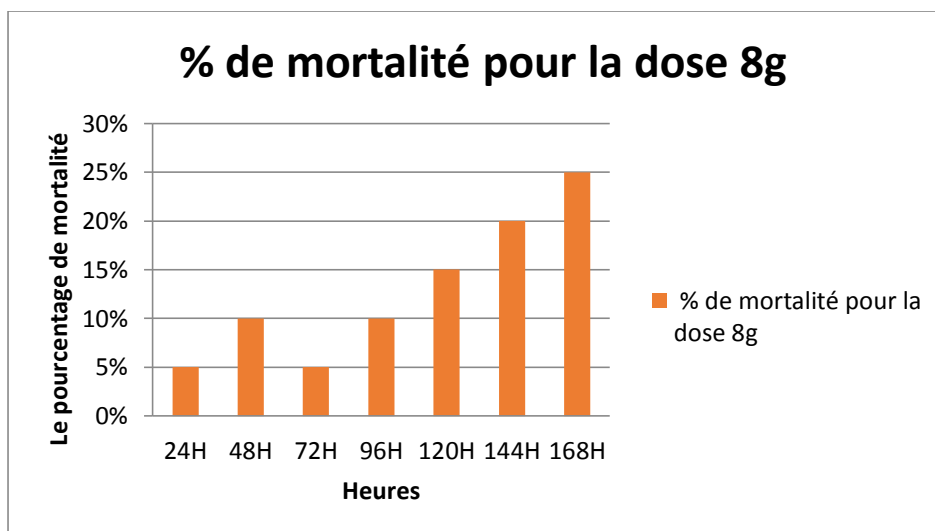


Figure35: histogramme de mortalité en % en fonction du temps pour la dose 8g

La figure représente un histogramme du taux de mortalité en pourcentage en fonction du temps pour la dose 8g.

Nous avons constatées un individu mort dès les premiers 24h puis nous remarquons une augmentation durant les 168h suivantes, des valeurs comprises entre 5% et 25% de mortalité.

Tableau 11 : le taux de mortalité pour la dose 12g :

heures	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h
nombre des individus morts	1	3	1	3	2	3	7

Tableau 12: le taux de mortalité en % pour la dose 12g :

heures	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h
% de mortalité	5%	15%	5%	15%	10%	15%	35%

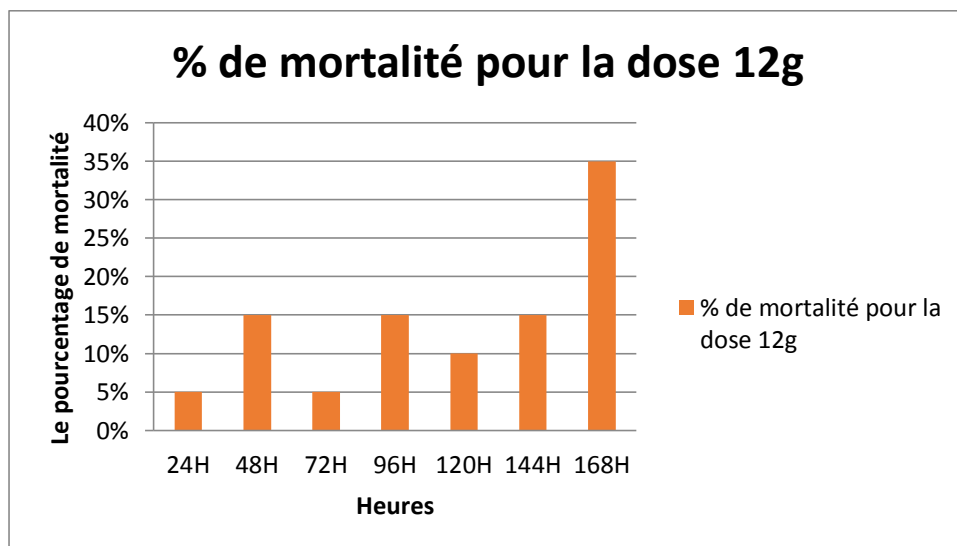


Figure36: histogramme de mortalité en % en fonction du temps pour la dose 12g

La figure représente un histogramme du taux de mortalité en pourcentage en fonction du temps pour la dose 12g.

Nous avons constatées un individu mort dès les premiers 24h puis nous remarquons une augmentation durant les 168h suivantes, des valeurs comprises entre 5% et 35% de mortalité.

Tableau13:Tableau global pour les cinq doses :

Heures	24H	48H	72H	96H	120H	144H	168H
Témoin	0	0	1	2	1	2	1
La dose 4g	0	1	2	2	3	1	4
La dose 6g	0	1	2	4	3	1	5
La dose 8g	1	2	1	2	3	4	5
La dose 12g	1	3	1	3	2	3	7

Tableau 14 : Tableau global de taux de mortalité en % pour les cinq doses :

Heures	24H	48H	72H	96H	120H	144H	168H
% de mortalité pour le témoin	0%	0%	5%	10%	5%	10%	5%
% de mortalité pour la dose 4g	0%	5%	10%	10%	15%	5%	20%
% de mortalité pour la dose 6g	0%	5%	10%	20%	15%	5%	25%
% de mortalité pour la dose 8g	5%	10%	5%	10%	15%	20%	25%
% de mortalité pour la dose 12g	5%	15%	5%	15%	10%	15%	35%

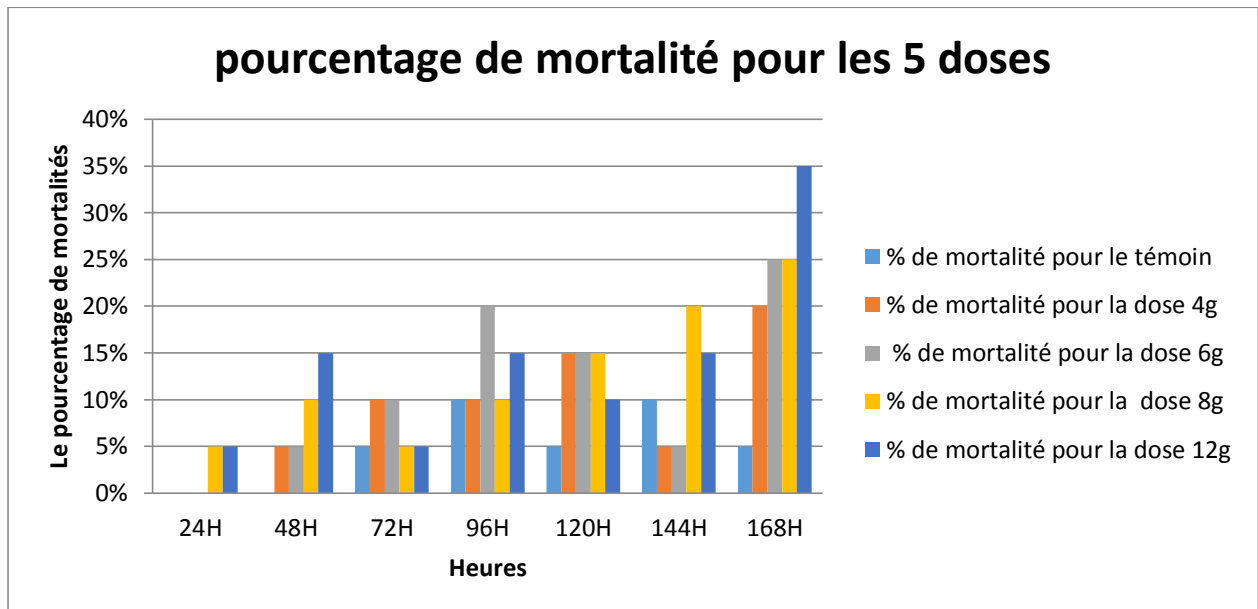


Figure37: histogramme de taux de mortalité en % en fonction du temps pour les cinq doses

La figure représente un histogramme global de taux de mortalité en % des adultes du *Tribolium confusum*, traité par les 4 doses (4g, 6g, 8g, 12g) de la poudre lichénique « *Xanthoria parietina* » pendant 168h.

III.2. Résultats de l'identification de l'extrait lichénique de *Xanthoria parietina* par la méthode de chromatographie sur couche mince CCM :

III.2.1 .L'observation de la plaque chromatographique :

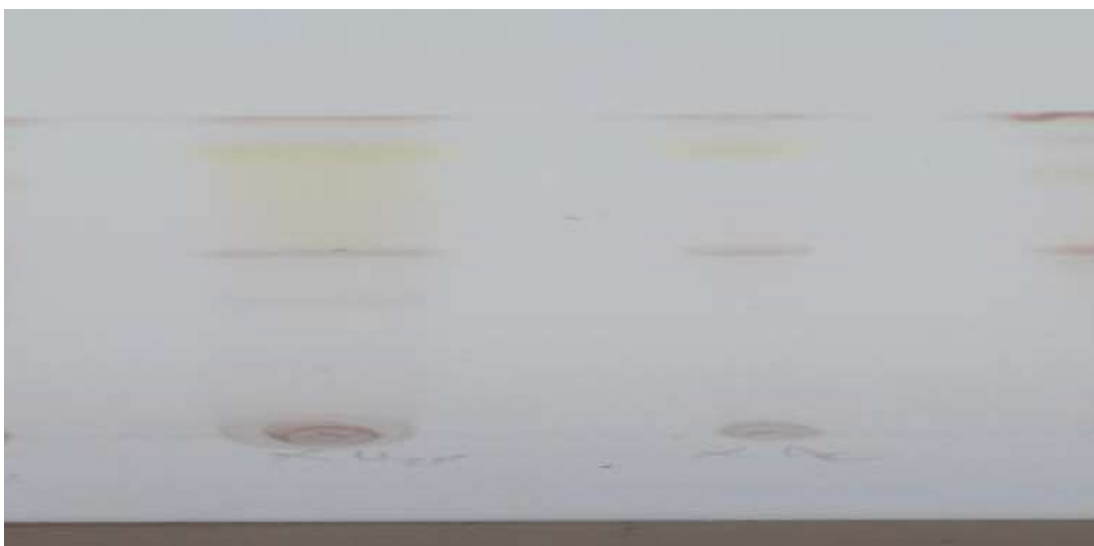


Figure38: profil chimique de *Xanthoria parietina*

III.3. Résultat de rendement d'extraction (RE) :

Les résultats de rendement d'extraction acétonique sont exprimés en pourcentage (%) de l'extrait lichéniques de *Xanthoria parietina*.

Ces résultats sont calculé à partir du poids du résidu sec obtenu après évaporation sous vide et la prise d'essai initiale pour les doses 4g et 12g.

$$RE\% = \frac{\text{Poids final}}{\text{Poids initial}} \times 100$$

Tableau 15 : Rendement de l'extrait acétonique de *Xanthoria parietina*

Dose	Rendement
4g	25%
12g	75%

III.4. Dosage des Polyphénols totaux :

Les analyses quantitatives des phénols totaux réalisés par la méthode basée sur le réactif de Folin-Ciocalteu ont été déterminées à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant l'acide gallique comme standard. Les résultats obtenues sont exprimées en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme de matière sèche (µg E.A.G. /mg ES).

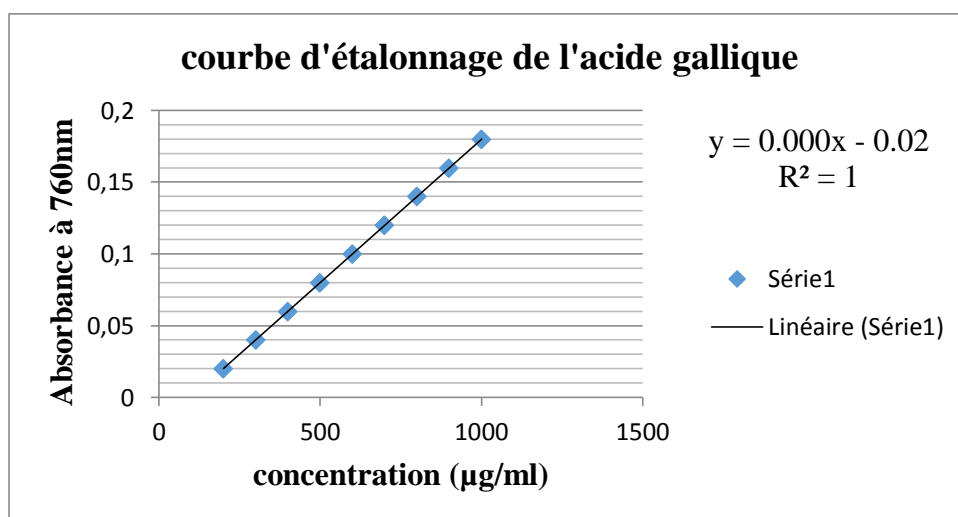


Figure39: courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Tableau 16: tableau de concentration de *Xanthoria parietina* des doses (4g/12g)

	Doses	Absorbance à760nm	Concentration (µg/ml)
1er essai	4g	0 ,05	350
	12g	0,11	650
2éme essai	4g	0,07	450
	12 g	0,12	700
3éme essai	4 g	0,09	550
	12g	0,13	750

Afin d'évaluer les résultats obtenus pour chaque paramètre étudié, nous avons fait appel à un test statistique en utilisant le logiciel R (version 3.6.2).

Nous avons comparé les résultats de taux de mortalités obtenus pour chaque dose (4, 12g) exprimées en heures.

Le test statistique vise à savoir si la différence entre les doses est significative ou pas en fonction du temps.

Nous avons appliqué le test de kruskal walis, la p-value obtenue est comparée a un seuil de signification $\alpha= 0.05$.

Nous avons vérifié s'il ya avait une déférence statistiquement significative entre l'efficacité des déférentes doses de la poudre lichénique testé sur le *Tribolium confusum*.

Tableau17: tableau de concentration de 3 essais d'extrait de *Xanthoria parietina*

Doses	Concentration µg/ml	Moyenne	Écart type	Variance	Coefficient de correlation
4g	350	450	100	10000	0,5105
4g	450				
4g	550				
12g	650	700	129.10	16666.67	0,00342
12g	700				
12g	750				

Tableau 18 :Le taux de mortalité pour la dose 4g

Heures	Nombre de mortalité en %	Moyenne	Écart type	Variance	Coefficient de corrélation
24h	0%	9.2857%	6.1301%	37.551%	0.7456
48h	5%				
72h	10%				
96h	10%				
120h	15%				
144h	5%				
168h	20%				

Tableau 19:Le taux de mortalité pour la dose 12g

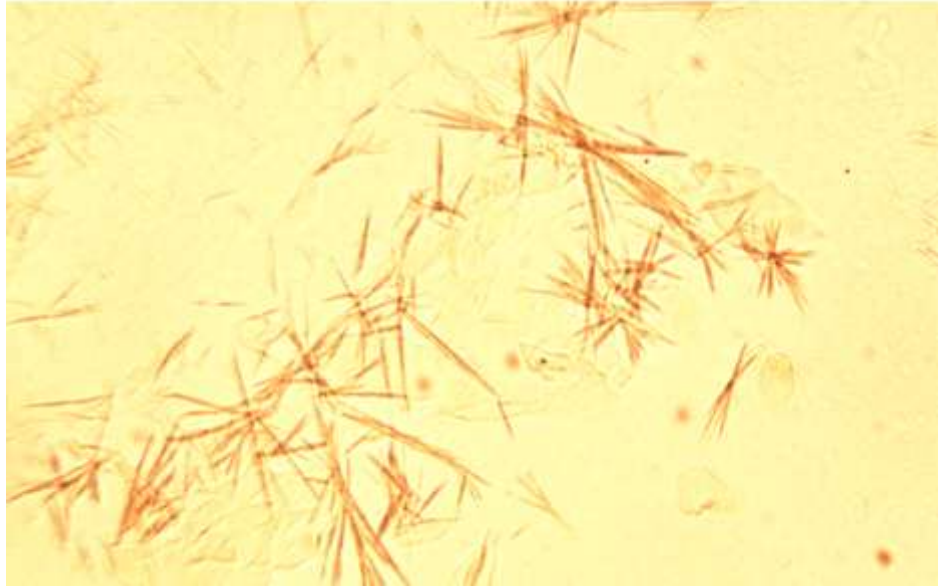
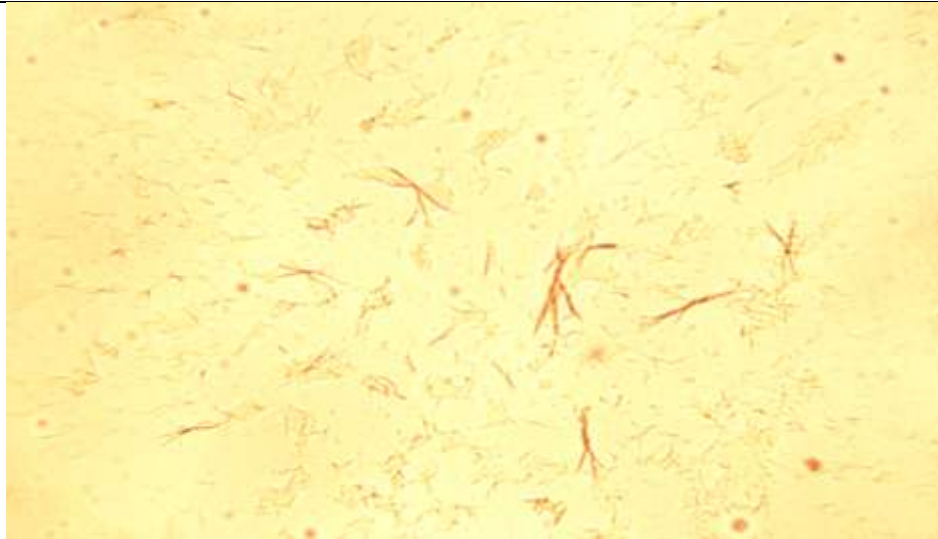
Heures	Nombre de mortalité en %	Moyenne	Écart type	Variance	Coefficient de corrélation
24h	5%	14.286%	10.640%	113.265%	0.7202
48h	15%				
72h	5%				
96h	15%				
120h	10%				
144h	15%				
168h	35%				

III.5. Résultats de la microcristallisation :

La microcristallisation a montrés la présence d'un composé majoritaire chez notre espèce qui est la pariétine (physcion), (molécules en formes des cristaux) apparait avec des formes différentes selon le réactif cristallogène utilisé (GE, GAW).

Tableau 20: Résultats de la microcristallisation avec différentes réactifs cristallogène.

Les observations sont réalisées au microscope optique à l'aide d'une lumière polarisé au grossissement 40*100.

<p>Le réactif cristallogène utilisé</p>	<p>Extrait lichénique de <i>Xanthoria parietina</i></p>
<p>GE</p>	 <p>A micrograph showing numerous needle-shaped crystals, characteristic of calcium oxalate, under Grosses Ensemble (GE) illumination. The crystals are brownish-orange and appear as sharp, elongated structures against a light yellow background.</p>
<p>GAW</p>	 <p>A micrograph showing numerous needle-shaped crystals, characteristic of calcium oxalate, under Gros Angle (GAW) illumination. The crystals are brownish-orange and appear as sharp, elongated structures against a light yellow background.</p>

Discussion :

Dans notre étude nous avons observé une mortalité des adultes de ravageur de blé (*Tribolium confusum*), traité par des différentes doses (0g, 4g, 6g, 8g, 12g) de poudre lichénique de *Xanthoria parietina*.

Les résultats montrent que l'effet de la poudre lichénique agit avec doses élevées dont le taux de mortalité de la dose 8g est de 25% et pour la dose 12g le taux de mortalité est de 35%.

- Le taux de mortalité pour la dose 4g est de 20% au bout de 168h, ou nous avons observé une moyenne de 9,28% d'après le tableau 18.

Les résultats de test statistique kruskal walis nous a donnés une p-value de 0.5105 qui est $> \alpha = 0.05$, Cela signifie que la dose 4g présente une faible influence sur la mortalité de *Tribolium confusum*.

- Le taux de mortalité pour la dose 12g est de 35% au bout de 168h, ou nous avons observé une moyenne de 14,28% d'après le tableau 19.

Les résultats de test statistique kruskal walis nous a donnés p-value = 0.00342 qui inférieur à $\alpha = 0.05$, Cela signifie que la dose 12g présente une forte influence significatives sur la mortalité de *Tribolium confusum*.

La courbe d'étalonnage utilisant l'acide gallique comme standard a permis de calculer les concentrations des polyphénols totaux, exprimées en μg d'équivalent d'acide gallique / ml de matière végétale, dans 9 échantillons. La méthode de dosage des polyphénols totaux, utilisant le réactif de Folin –Ciocalteu. Les résultats en polyphénols totaux révèlent une concentration moyenne de 550 μg d'équivalent d'acide gallique /ml de matière végétale.

L'équation d'étalonnage des polyphénols totaux est la suivante : $y=0,0002x-0,02$ et $R^2 =1$

Il ressort de l'analyse des données une bonne corrélation de teneurs en polyphénols et le taux de mortalité de *Tribolium confusum*.

Les techniques de détections des molécules actives nous ont permis de :

- La CCM nous a révélé la présence de deux taches : une tache jaune vif, et une autre tâche orange du même composé qui est la pariétine (physcion). Ce résultat à été confirmé par la technique de microcristallisation.

Ces techniques nous ont permis de constater que le composé majoritaire de *Xanthoria parietina* est la pariétine qui le pigment cortical de couleur jaune/orange appartenant à la famille des anthraquinones, il s’y dépose en cristaux extracellulaires dans leur cortex supérieur, (Smith, 2009).

Conclusion

Ce présent travail vise la valorisation de substances naturelles en tant que biopesticides. Pour cela, nous nous sommes intéressés à l'utilisation de substances lichéniques d'un lichen *Xanthoria parietina* vis-à-vis d'un ravageur de blé (*Tribolium confusum*).

- La poudre de *Xanthoria parietina* révèle un effet bio-insecticide efficace vis-à-vis des adultes de *Tribolium confusum* puisque la mortalité moyenne de ces adultes augmente en fonction des doses testées et de temps d'exposition par rapport aux témoins. Nous constatons que la dose 12g s'avère efficace puisque nous avons obtenu 100% de mortalité.
Cet effet dû à la composition chimique de *Xanthoria parietina* qui est la pariétine.
- La chromatographie sur couche mince a bien révélé la présence d'une substance chimique qui est la pariétine (physcion). Cela a été confirmé par la technique de la microcristallisation qui nous a permis d'observer la pariétine sous formes des étoiles.
- Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits de notre espèce *Xanthoria parietina* démontre une bonne corrélation entre les composés phénoliques et l'activité bio insecticide.
- Le test statistique effectué sur les doses (4g, 12g), nous a montré que le taux de mortalité dépend de forte dose testé sur les adultes de *Tribolium confusum* en fonction de temps.

En perspectives de recherche, il serait intéressant de mener une étude plus approfondies, afin d'isoler les substances actives de cette espèces lichénique et d'étudier l'effet des différents composants sur les ravageurs.

Abstract :

Les lichens sont un groupe de « végétaux » appartenant aux cryptogames comme les champignons, les mousses et les fougères. Ils sont le résultat d'une symbiose entre un champignon hétérotrophe et une algue verte ou une cyanobactérie autotrophe.

Dans ce travail nous avons réalisé une lutte biologique avec de la poudre lichénique de *Xanthoria parietina* sur les ravageurs de blé (*Tribolium confusum*).

Des méthodes modernes et innovantes (chromatographie sur couche mince, la microcristallisation) nous ont permis de mettre en évidence la présence d'un composé majoritaire qui est le pariétine qui aurait probablement un effet biopesticide.

Les mots clés : lichen, pariétine, *Tribolium confusum*, *Xanthoria parietina*.

SUMMARY:

Lichens are a group of "plants" belonging to cryptogams such as fungi, mosses and ferns. They are the result of a symbiosis between an heterotrophic fungus and a green alga or an autotrophic cyanobacterium.

In this work we carried out a biological control with lichen powder of *Xanthoria parietina* on wheat pests (*Tribolium confusum*).

Modern and innovative methods (thin layer chromatography, microcrystallization) have enabled us to highlight the presence of a major compound which is parietin which would probably have a biopesticidal effect.

Key words: lichen, parietin, *Tribolium confusum*, *Xanthoria parietina*.

Références bibliographiques

- 1- Andraud-Dieu A (2015).** Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique : Etude phytochimique de trois lichens et approche synthétique de deux composés actifs. Thèse Pour obtenir le grade de docteur l'Université de Limoges, Français. Biologie moléculaire. 231.
- 2- Anonyme, 2001.** Contrôle de la qualité des céréales et protéagineux .Ed . ITCF. 268P.
- 3-Benazzedine. M; 2010.** Activités insecticides de cinq huiles essentielles vis-à-vis de *sitophilus oryzae* (coléoptera, curculionidae) et *Tribolium confusum* (Coleoptera, Tenebrionidae). Ecole nationale supérieur agronomique El-Harrach d'Alger-ingénieur d'état en science agronomique.
- 4-Belleenfant S, Beguinot J, Vallade J, Sirugue D, Lemmel C (2010).** Groupe Lichens de Bourgogne (GLIB). Les lichens une symbiose exemplaire. Rev. sci. Bourgogne-Nature. 45.
- 5-Beguिनot J .2010 .**Les lichens « conquérants écologiques de l'impossible ».
- 6-Bricaud O., et Bauvet C.(2006) :**Aperçu de la végétation lichénique du bois de Païolive (Ardèche) ;Rapport final Association française de Lichénologie .
- 7-Clauzade G et Roux E .1987 .**Généralités sur les lichens et leur détermination
- 8- Culberson. C. F, Elix. J. A,** Lichen substances. In methods in Plant Bio Chemistry, Plant Phenolics, Harborne, Ed. 1989
- 9- Fahselt, D.; (1994) ,** Secondary biochemistry of lichens. Symbiosis, 16, 117-165p.
- 10-Gavériaux ; J.P. ;(2012-2014).**classification phylogénétique actuelle des lichens
- 11-Gavériaux J.-P, (2008), -** Lexique des principaux termes de lichénologie, Lettres A, B,C, bull. AFL 33-1, 28 p. / lettres D, E, bull. AFL 33-2, 20 p.
- 12-Goga M, Elečko J, Marcinčinová M, Ručová D, Bačkorová M, Bačkor M (2020).** Métabolites du lichen: un aperçu de certains métabolites secondaires et de leur Potentiel biologique. Co-évolution des métabolites secondaires, 175-209.
- 13-Jacquelinet S.2008.**Les lichens : des végétaux unis pour la vie .www .Lespascale ; Org.
- 14-Kirschbaum et Wirth .1997.**Les lichens bio-indicateurs : les reconnaître évaluer la qualité de l'air .2ème édition Eugen Ulmer
- 15-Lepesme. P., 1944.** Les coléoptères des denrées alimentaires et des produits industriels entreposés. Ed. Paul le chevalier, Paris, 335P

Références bibliographiques

- 16-Nultsch .W ; 1998.**Botanique générale traduction de la 10eme édition allemand par Roger Miesch et Yves .Sell, de baekUniv Thienne.S-a-1998-Paris Bruxelles .pp :364-370
- 17-Ozenda P., 2000.** Les végétaux. Organisation et diversité biologique. Edition.Dunoud. Paris, Pp .162-192.
- 18-Ozenda P., Clauzade G. 1970.** Les lichens: étude biologique et flore illustrée. Paris, Masson et Cie ,801p .
- 19 - Oksanen. I, Ecological** and biotechnological aspects of lichens. Applied microbiology and biotechnology 2006, 73: 723-734.
- 20- Podterob. A. P,** Chemical composition of lichens and their medical applications. Pharmaceutical Chemistry Journal 2008, 42 (10), 582-588.
- 21-Rowe, J. G.; Saenz, M. T.; Garcia, M. D. & Gil, A. M.; (1991),** Nouvelle contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne et identification des substances lichéniques de quelques lichens de sud de l'Espagne. Annales Pharmaceutiques françaises, 49 (5), 278-285p.
- 22- Shukla V, Joshi G P, Rawat M S M (2010).** « Lichens as a potential natural source of bioactive compounds: A review », Phytochemistry Reviews2010;9;303-314
- 23-Shrestha G, Clair LLS (2013).** Lichens: une source prometteuse d'antibiotiques et de médicaments anticancéreux. Revues de phytochimie, 12 (1), 229-244.
- 24-Sérusiaux E. , Diederich P et LambinonJ.2004.**Lichens forestres de Wallonie : Introduction et aide à la reconnaissance des espèces indicatrices .Ferrantia 40 ;192P.
- 25-Van-Haluwyn C et Lerond M., 1993.** Guide des lichens. Edition. Le chevalier.
- 26-Van Haluwyn C, Asta J, Gavériaux, JP. (2009).** Guide des lichens de France - Lichens des arbres (Belin).
- 27-Yuan, X.; Xiao, S.; Taylor, T. N. Science** 2005, 308, 1017-1020.