



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud Mammeri de TiziOuzou

Faculté des Sciences Biologique et des Sciences Agronomiques

Département de Biologie

## Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de master en Biologie

Option : Biodiversité physiologie végétale

Thème :

**Etude de l'effet bio pesticide de la poudre lichénique  
de *cladonia portentosa* contre le ravageur de la  
semoule *Tribolium confusum***

Structure d'accueil :

Laboratoire de physiologie végétale UMMTO

Réalisé par :

Sabrina Medsana

Melissa Khida

Soutenu le 30/10/2023 devant le jury composé de :

Présidente : Mme TALEB .K

Maitre de conférences classe A UMMTO.

Promotrice : Mme SAHMOUNE.F

Maitre de conférences classe B UMMTO.

Examinatrice : Mme AKLI.A

Maitre assistante classe B

Promotion 2022/2023

# *Remerciement*

Aboutissement de longues années d'études, c'est avec joie que nous rendons ce travail si passionnant, enrichissant et épuisant.

Nous tenons tout d'abord à remercier Mme F.Sahmoune qui nous a ouvert les portes du laboratoire, qui nous a accordé son aide à toutes les étapes de ce projet et qui a parfaitement accompli son rôle d'accompagnateur et de responsable.

Nous remercions également notre cher enseignante Mme K Taleb , notre président de jury et notre responsable de spécialité d'avoir veillé sur le bon déroulement de notre cursus jusqu'à notre soutenance et d'avoir examiné notre travail accompagnée de nos examinatrices ; madame F.Sahmoune , et madame A.AKli

Enfin, nous adressant nos plus sincères remerciements à nos familles et tous nos proches et amis, qui nous ont accompagnés, aidé, soutenu et encouragé tout au long de la réalisation de ce mémoire.

## *Dédicace*

*Je dédie ce mémoire à :*

*Mes chers parents que nulle dédicace ne peut exprimer mes sentiments, pour leur patience illimitée, leur encouragement, leur aide, leur soutien matériel et spirituel en témoignage de mon profond amour et respect pour leurs sacrifices qui n'ont jamais cessés de déployer.*

*Mes chers frères, Moumouh, Iyes, pour leur grand amour et leur soutien qu'ils trouvent ici l'expression de ma haute gratitude.*

*A ma sœur Romaiassa toujours soutenu, mes sincères remerciements.*

*A Iziassen que j'aime beaucoup ♥*

*A ma binôme Sabrina, pour ces efforts à mes côtés pour la réussite de ce travail.*

*Et à toute ma famille et à tous ceux que j'aime*

*Melissa*

# *Dédicace*

*A l'aide de DIEU, le tout puissant, ce travail est achevé.*

*Je le dédie à toutes les personnes qui me sont chères :*

*A MES CHERS PARENTS, Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices. Puisse Dieu, vous accorder santé, bonheur et longue vie.*

*A mes frères yacine, Hakim, Menad qui m'ont toujours soutenu à qui je leur souhaite beaucoup de bonheur et de réussite dans leur vie.*

*A ma sœur sarah qui m'as toujours soutenu, mes sincères remerciements.*

*A ma nièce Aylen que j'aime beaucoup*

*A ma chérie Anissa que j'aime beaucoup*

*A mes adorables copines : Amel, Anais , Ania. Mounia, wissem*

*A ma binôme, Melissa, pour ces efforts à mes côtés pour la réussite de ce travail.*

*A toute ma famille.*

*A toute personne que j'aime.*

*A toute personne qui m'aime.*

*Sabrina*

Figure1 : photo d'un lichen (web1).

Figure 2 : Coupe transversale d'un thalle homéomères(s TIEVANT, 2001).

Figure3 : Coupe transversale d'un thalle hétéromère (d'après TIEVANT, 2001).

Figure 4: Principales structure histologique rencontrées chez les lichens (Le pogam-Alluard, 2016).

Figure 5 : Représentations schématiques de certaines structures non reproductrices. (Gavériaux, 2009).

Figure6 : Représentation schématiques de certaines structures de reproduction sexuée et asexuée (Gaveriaux, 2009).

Figure7 : Les différentes voies de biosynthèse des métabolites secondaires lichéniques (Elix, 1996).

Figure8: Structure de base des flavonoïdes.

Figure9 : structure de base des coumarines.

Figure 10 : Physconiadistortaphotos *Gilles Weiskricher (Anab, 2018)*

Figure 11: *Rhizocarpon geographicum* Banque d'image et photos-Alamy

Figure 12: *Lecanora strobilina*(spreng) Kieff., 1895

Figure13 : *Tribolium confusum*vue dorsale (web4).

Figure 14 : cycle de développement chez *Tribolium confusum* (web5).

Figure 15 : *Cladonia portentosa* (web5).

Figure 16 : Carte de la situation géographique de la zone d'étude (Yakourene).

Figure18 : Extrait lichénique avec de l'acétone (photo prise au niveau de laboratoire biologie physiologie végétal UMMTO).

Figure 17 : *Cladonia portentosa* (web5)

Figure 19 : Photo des boîtes contenant la poudre lichéniquesadiffentes dose, la semoule et les insectes (photo prise au niveau de laboratoire biologie physiologie végétal UMMTO).

Figure20 : Chromatographie sur couche mince réalisé avec l'hexane et l'acide formique et diethylether (Photo prise au niveau de laboratoire biologie physiologie végétal UMMTO).

Figure21 : Chromatographie sur couche mince réalisé avec l'hexane Toluène et l'acide formique (Photo prise au niveau de laboratoire biologie physiologie végétal UMMTO).

Figure 20 : le taux de mortalité en % en fonction du temps pour le témoin 0g.

Figure21 : le taux de mortalité en % en fonction du temps pour la dose 4g.

Figure22 : le taux de mortalité en % en fonction du temps pour la dose 6g.

Figure23 : le taux de mortalité en % en fonction du temps pour la dose 8g.

Figure24 : le taux de mortalité en % en fonction du temps pour la dose12g.

Figure25 : le taux de mortalité en pourcentage en fonction du temps pour les cinq doses.

Figure26: photos de résultats de micro cristallisation de l'acétone

Figure 27 : Résultat de la plaque chromatographique.



Liste des tableaux

Tableau 1 : le taux de mortalité pour la dose 0g (témoin).

Tableau 2 : le taux de mortalité en % pour la dose 0g (témoin).

Tableau 3 : le taux de mortalité pour la dose 4g

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

Tableau 5 : le taux de mortalité pour la dose 6g

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

Tableau 7 : les résultats obtenus pour la dose 8g.

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

Tableau 9 : les résultats obtenus pour la dose 12g.

Tableau 10 : le taux de mortalité en % pour la dose 12g

Tableau 11 : tableau global pour les cinq doses.

Tableau 12 : tableau globale de taux de mortalité en pourcentage pour les cinq doses.

Tableau 13 : valeurs de RfC de l'espace de *Cladonia portentosa*

### Liste des annexes

Annexe 1 Principaux types de lichens à travers quelques exemples (web2)

Annexe 2 Protocole de préparation de l'extrait lichénique (figure 16)

Annexe 3 : méthode de calcul de rendements

### Liste des abréviations :

AC : Acide

CCM : chromatographie sur couche mince.

GAAn: Aniline-Glycérol-Ethanol (1-2-2)

GAW: Glycérol-Ethanol-Eau (1-1-1)

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

g : le gramme.

H : heure

KK : Hydroxyde de potassium(KOH) 5g

ml : millilitres

R : le rendement

RF : Rapport frontale.

% : le pourcentage.

## Partie I : synthèse bibliographique

Introduction .....	1
I -Chapitre I : Généralités sur les lichens.	
I-1 définition.....	2
I-2 Morphologie et anatomie des lichens .....	2
I-2-1-Différentes types de thalle .....	3
I-3-L'anatomie .....	4
I-3-1- Structure homéomère .....	4
I-3-2-Structure hétéromère .....	6
I-4-Les organes portés par le thalle .....	7
I-4-1 Organes portés par la face inférieure du thalle.....	8
I-4-2- Les organes portés par la face supérieure du thalle .....	8
I-5-La reproduction des lichens.....	9
I-5-1La multiplication végétative (asexuée) .....	9
I-5-2-Reproduction sexuée .....	10
I-6- La symbiose.....	12
I-7-La biochimie des lichens .....	12
I-7-1-Les voies de biogénèse des métabolites secondaires lichéniques.....	13
I-8-Ecologie des lichens .....	17
I-9-Usage et l'intérêt des lichens.....	18
Chapitre : Matériels et méthodes	
I-1- Matériels animales.....	21
I-1-1-Systematique .....	21
I-1-2-Caractère généraux.....	22
I-1-3-Description des différents stades de développement de Tribolium confusum.....	22
I-1-4- les dégâts causées par Tribolium confusum.....	23
I-2-Matériels biologiques .....	24

I-2-1-Matériels végétale .....	24
I-2-2- Systématique <i>Cladonia portentosa</i> .....	25
I-2-3-Definition .....	25
I-2-4-Description .....	26
II-Méthodologie .....	26
II-1-La récolte des lichens .....	26
II-2-Conservation de l'échantillon lichéniques .....	27
II-3- La préparation du matériel végétal .....	27
II-4-Préparation de l'extrait lichénique .....	27
II-5-Activité bio insecticide de la poudre lichénique .....	28
II-7-chromatographie sur couche mince .....	29
II-7-1-Description de la technique .....	29
II-7-2-Preparation de la plaque CCM.....	30
II-8-la microcristallisation .....	31
Chapitre : Résultat discussion	
Résultats de l'activité bio pesticides.....	33
Résultats de la chromatographie sur couche mince.....	40
Résultats de la micro cristallisation.....	41
Discussions.....	42
Chapitre : La conclusion .....	44
Référence bibliographie	
Annexe	

# Introduction

Les lichens sont des organismes symbiotiques complexes capables de se produire une vaste gamme de composés. Ce sont des espèces singuliers résultant de l'association symbiotique entre un champignon ( mycobionte) , et un ou plusieurs partenaires photosynthétiques (photobionte).

Environ 85% des photobiontes sont des algues vertes et 10% sont des cyanobactéries **(Shresta et clair, 2013).**

Les lichens sont des organismes uniques produisant des métabolites biologiquement actifs **(Joel et al, 2005).** Leurs métabolites sont généralement divisés en deux : métabolites primaires et métabolites secondaires, les métabolites primaires sont les protéines, les lipides et les carbohydrates.

Les métabolites secondaires sont des molécules qui par exclusion n'appartiennent pas au métabolite primaire appelées aussi substances lichéniques, sont des molécules très complexe insoluble dans l'eau et soluble dans les solvant organique, et aussi participent a la vie de la relation de la plante (ou de leur organisme hôte) et ils ont des rôles très varier ils peuvent servir de défende ( sécrétion amer ou toxique pour le prédateur) , elles exercent plusieurs effet biologique antibactérien antioxydant anthelminthique et insecticide...ect**(Vinyaka et al.,2009,tatjana et al.,2011) .**

C'est dans ce contexte que nous avons étudié l'extraction des substances lichéniques à partir d'un lichen *cladonia portentosa* récoltée dans la région de Yaakouren. Des essaies d'identification ont été réalisé par chromatographie sur couche mince CCM et des réactions colorées des substances lichéniques ont été mise en évidence.

En effet, beaucoup d'études ont été réalisés pour tester l'effet insecticide des extraits de différents lichéniques mais très peu étude sur l'utilisation de ces substances, pour cela nous avons étudié **l'effet bio-pesticides des substances lichéniques sur un ravageur des denrées alimentaires.**

L'objectif de ce travail est consacré à l'étude de l'activité bio-pesticides d'un lichen *cladonia portentosa* sur un ravageur de denrées alimentaire (blé, farine) appelé *Tribolium confusum*.

Nous avons structuré notre travail comme suit :

- Dans le premier chapitre, on a décrit de manière générale les lichens
- Deuxièmement, on a cité le matériel animal et végétal qu'on a utilisé pour réaliser notre étude ainsi que la méthode qu'on a suivit.
- Dans le troisième chapitre on a reporté nos résultats trouvée par les différentes expériences qu'on a réalisées au niveau de notre laboratoire physiologie végétal ainsi leurs interprétation suivit par une discussions relative
- A la fin on a terminé notre étude par une conclusion générale



# Généralités

## I- GENERALITES SUR LES LICHENS :

Les lichens font partie des thallophytes, vaste ensemble de végétaux dépourvus de tiges, feuilles et racine et qui ne sont pas vascularisés (**Van Halluwyn et Lerond, 1993**).

Ils sont formés par l'association symbiotique entre un champignon hétérotrophe appelé mycobionte (une algue verte ou cyanobactérie) autotrophes (chlorophylliens) appelé photobionte (**Louis de Schreyer, 2009**).

### I-1 définition :

Un lichen est une association stable indépendante entre un mycosymbionte et un photosymbionte (**Coste, 2008**). Dans lequel le mycosymbionte est chargé de l'absorption de l'eau et des éléments nutritifs environnants et l'autre partenaire photosymbionte (algale) sert à fournir au lichen des éléments nutritifs produits par la photosynthèse (**Van Halluwyn et Lerond, 1993**).



Figure1 : photo d'un lichen (web1)

### I-2 Morphologie et anatomie des lichens :

Les lichens sont des thallophytes, ils n'ont pas de vaisseaux conducteurs. Leur appareil végétatif est un thalle qui constitue l'essentiel du lichen, il assure la nutrition, l'entretien de la vie et la croissance. Le thalle des lichens présente une morphologie spécifique, différente de celles des algues et des champignons libres (**Tievant, 2001**).

## I-2-1-Différentes types de thalles : Figure 2 voir annexe 1

Selon (Van Halluwyn et al. 2009) il existe 8 types de thalles :

- **Thalles gélatineux** : ils sont connus chez les lichens à cyanophycées (algues bleues), ils sont noirs et cassants à l'état sec, ils gonflent et deviennent gélatineux-pulpeux à l'état humide par exemple: *Collemaflaccidum* (TIEVANT, 2001).
- **Thalles fruticuleux**: présentent des formes barbues ou en lanière qui sont fixés en un seul point au support (GREGORY et DIMIJIAN, 2003), les thalles fruticuleux, sont réparties en deux groupes
  - Sous forme de tiges cylindriques plus ou moins ramifiés comme: *Usnea*
  - Sous forme de lanières entières ou déviées qui sont les plus long des Lichens comme: *Everniaprunastris*(Van Halluwyn et Lerond, 1993).
- **Thalles foliacés**: forment des thalles en formes de lames ou des petites feuilles, plus ou moins lobées ou en lanières simples ou divisées. Ils sont faiblement appliqués au substrat et sont facilement détachables par endroits. exemple *Paemelia*, *Lobaria*(TIEVANT, 2001).
- **Thalles squamuleux**: sont formés de petites écailles ou squamules, de plus d 1,5mm, serrées les uns contre les autres, sont contigües, plus au moins imbriquées ou mêmes superposées, convexes, la face supérieure est plane ou concave avec un bord plus ou moins adhérent au substrat comme *Psora*(TIEVANT, 2001).
- **Thalles crustacés**: forment des thalles ressemblant à des croutes, ils adhèrent au support sur toute leur surface, ils ne peuvent pas être détachés quand les fentes dans le thalle sont suffisamment profondes, elles forment un réseau de petitscompartiments de tailles variées (G.CLAUZADE et C.ROUX 1987).
  - Si les compartiments ont une taille de l'ordre de 1,5mm de large, sont plutôt plats et polygonaux, le thalle est **aréolé**.
  - Si les compartiments mesurent 0,5 à 1,5mm de large, sont plutôt arrondis et convexes, le thalle est **verruqueux**.
  - Si les compartiments mesurent de 0,5mm de large, ils forment de petits grains, le thalle est **granuleux**.

- Si le thalle est formé de minuscule granule de 0,1 à 0,2mm, c'est un thalle **lépreux**.

Les limites des thalles peuvent être imprécises ou très nettes, parfois une ligne sombre, noire ou feutrée appelée l'hypo thalle (**G.CLAUZADE et C.ROUX 1987**).

- ✓ **Thalles lepreux:** A l'œil nu, ces thalles rassemblent à la poudre qui se détache facilement du substrat par exemple: *Chrysothrixcandelaris*(**TIEVANT, 2001**).
- ✓ **Thalles filamenteux:** Formés par des filaments très fins, emmêlés, ce genre de thalle est étalé sur le support et très adhérent au substrat (**TIEVANT, 2001**).
- ✓ **Thalles complexe ou composites :** sont formés de deux parties distinctes, un thalle primaire plus au moins foliacé, squamuleux ou crustacé, adhérent au substrat, sur lequel se développe un thalle secondaire dressé, fruticuleux formé d'éléments plus ou moins perpendiculaires au substrat comme: *Cladonia cristatella*(**TIEVANT, 2001**).

### I-3-L'anatomie :

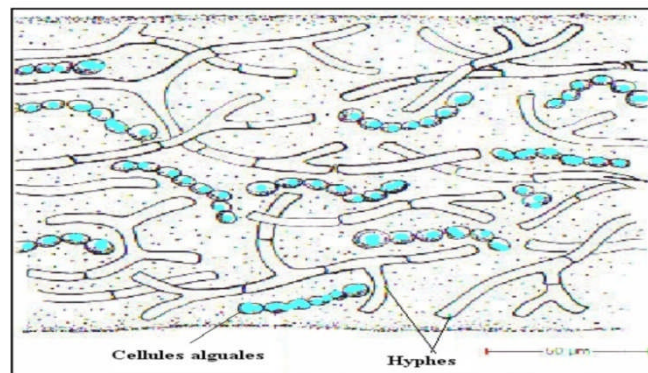
Même si les lichens sont très différents morphologiquement, leur structure anatomique est au contraire très uniforme et assure leur unité, suivant que le constituant algal est une algue verte ou bleue (**Van Halluwyn et al, 2009**).

Selon (**Sérusiaux et al, 2004. Jahns, 2007, Haluwyn et al, 2007**). Il existe deux types de structures: **homéomères** et **hétéromères**.

#### I-3-1- Structure homéomères:

Dans le cas de la structure homéomère, l'algue prédomine sur le champignon, ou les cellules d'algue et d'hyphes sont mêlées et réparties dans toute l'épaisseur du thalle la même proportion (homogène), cette structure caractérise surtout dans les thalles gélatineux (**Ozenda. et CLAUZADE 1970**).

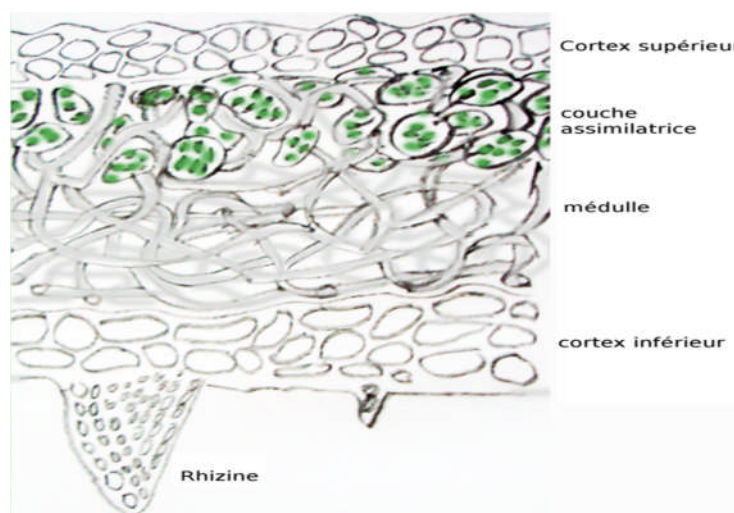
Selon (**Van Halluwyn, et al, 2009**) on retrouve ce type de structure aussi chez certains lichens lépreux.



**Figure 2 : Coupe transversale d'un thalle homéomères(s TIEVANT, 2001)**

### **I-3-2-Structure hétéromère :**

C'est une structure caractéristique des thalles non gélatineux (Abbayes, 2010). Il existe 3 types de Structure : stratifiée, radié et stratifiée radié(Le Gac et al, 2006).



**Figure3 : Coupe transversale d'un thalle hétéromère (d'après TIEVANT, 2001)**

**-Structure hétéromère stratifiée :** est la plus répandue(Le Gac et al, 2006).

Elle se présente dans la majorité des lichens foliacés(Van Halluwyn, et al, 2012).

Une coupe transversale de lichen montre la succession suivant:

- Un cortex supérieur
- Une couche algale
- Une médulle
- Un cortex inférieur constitue seulement d'hyphe. (Tievant, 2001).

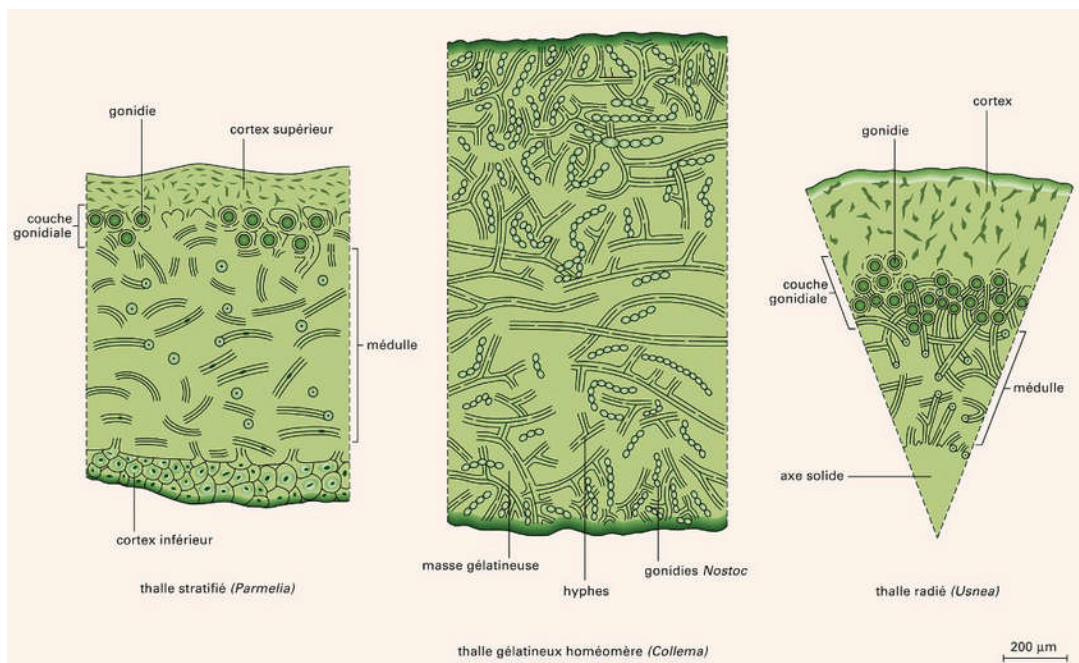
**- Structure hétéromère radiée:**

La structure hétéromère radiée est présente chez la plupart des lichens fruticuleux(Halluwyn, et al, 2012).

Selon (Le Gac et al, 2006), cette structure sont constituée des même que la structure stratifiée mais disposée de façon concentrique, le cortex inferieur n'existe pas.

**-Structure hétéromère stratifiée radié :**

Ce présente dans le thalle composite tel que « *Cladonia* ». Elle combine les deux types de structure stratifiée : stratifiée des petites squamules et structure radiée des petites branches dressées et creuses (Serusiaux et al, 2004).



**Figure 4: Principales structure histologique rencontrées chez les lichens (Le pogam-Alluard,2016).**

## I-4-Les organes portés par le thalle:

Les organes spéciaux du thalle lichénique :

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

### I-4-1 Organes portés par la face inférieure du thalle :

- **Rhizines** : Ce sont des organes de fixation allongés du thalle foliacé. Simple ou ramifiés ont une couleur claire ou foncée. Formées d'un faisceau d'hybe plus au moins soudés et recouverte d'une gaine gélatineuse ; facilitent l'adhésion du thalle au substrat. Il existe chez plusieurs espèces (Senever1990).

- **Poils** : Sont constitués par l'extrémité libre d'hyphes, appartenant principalement au cortex inférieur ou en l'absence de celui-ci à la médulle. On a les rencontre surtout chez les lichens foliacés comme chez *lobaria*, ou ils sont longs et incurvés un peu on peut aussi en observer sur la face supérieure par exemple, chez *parmelia glabara* (Ozenda et clauzade, 1970).

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

- **Cyphelles** : Ce sont des dépressions arrondies ou allongées de teinte blanchâtre, ne sont connues que chez les *sticta* ou le fond de la dépression est revêtu d'un cortex modifié formé de cellules globule ménageant entre elles des espaces vides (ozenda et Clauzade, 1970).

- **Pseudo\_cyphelle** : Ce sont des ouvertures du cortex inférieur et supérieur laissant apparaître la médulle.

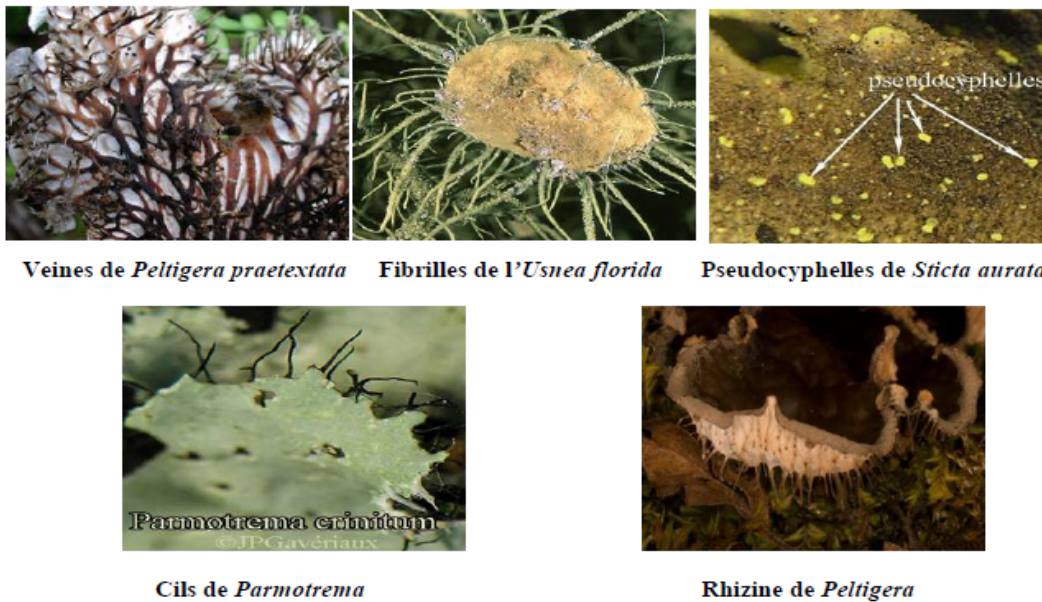
Elles ont un rôle important dans les échanges gazeux avec l'atmosphère sont beaucoup plus répandues par exemple chez *Ranalina*(généves, 1990).

### I-4-2- Les organes portés par la face supérieure du thalle :

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

- **Fibrilles** : Ce sont des ramifications filamenteuses courtes, collés au thalle et sont toujours bien visibles à l'œil nu, se trouvent par exemple chez *UsnioFlorid*(OZENDA et CLAUZADE, 1970).

- **Nodules** : Appelées également tubercules, sont des simples saillies, souvent de forme irrégulière, et toujours moins haute qu'épaisse, sont surtout rencontrées chez les *Usnea* (OZENDA et CLAUZADE, 1970).
- **Papilles** : Sont des petites protubérances, uniquement constituées de cortex visible à la loupe, plus haut que large, situées entre les fibrilles sur le thalle des usnées.
- **Céphalodies** : Ce sont de sorte de verrues en générale cortiquées, se trouvent chez les espèces dont les gonidiess ont des chlorophycées telles que *Peltigeraaphthosea* (OZENDA et CLAUZADE, 1970).



**Figure5 : Représentations schématiques de certaines structures non reproductrices. (Gavériaux, 2009)**

## I-5-La reproduction des lichens

Les lichens se reproduisent se fait par deux manières : par la multiplication végétative et par la reproduction sexuée.

**I-5-1La multiplication végétative (asexuée)** : les lichens sont des organismes reviviscents capables de subsister longtemps à l'état sec (Gaveriaux, 1996).

D'après (Halluwyn, et al. 2012), la multiplication végétative peut avoir lieu par fragmentation de thalle ou à l'aide des organes spécialisés les plus importantes sont isidies et les soralies (Budel et Xheidegger, 1996).

- **Fragmentation de thalle** : c'est le processus le plus fréquent et le plus simple, sont ceux qui mettant en jeu des corpuscules bien différenciés et constitués de deux symbioses.

Corpuscules structurés, il s'agit d'une différenciation de l'ensemble des constituants du thalle, donnant naissance à des excroissances cortiquées à structure plus ou moins comparable à celle du thalle (insidies, schizidies). Chez les corpuscules non structurés, la disparition du cortex supérieur permet la libération de petites masses composées de la photo symbiote et d'hyphes fongiques (**Van Halluwyn, M. Lerond, 1993**).

### ➤ **Reproduction asexuée par soralies :**

Les sorédies ressemblent à des petites granules poudrés sur le bord du thalle. Chez certaines espèces, ils peuvent apparaître n'importe où sur le thalle ou se localiser à des zones délimitées appelées soralies. Chaque sorédie se compose de quelques cellules algales entourées d'hyphes fongiques. Les sorédies permettent la colonisation de nouveau lieu par fois très éloignées car sont facilement transportées par le vent (**SINGH et SINHA, 1997**).

### ➤ **Reproduction asexuée par isidies:**

Les isidies sont des petits bourgeons formés d'algue et d'hyphes (champignon) protégé par le cortex. On distingue différents types morphologiques: cylindrique, sphérique, en massue ou claviforme, en forme de squamule. Elles peuvent être simple ou ramifiées localisées le plus souvent sur la face supérieure de thalle. Ces isidies se détachent mais plus lourdes, elles tombent à proximité et permettant la colonisation d'un même endroit (**OZENDA, 2000**).

## **I-5-2-Reproduction sexuée:**

La multiplication des lichens par voie sexuée pose un problème particulier, seul le mycobionte est capable, il formera les fructifications typiques du champignon libre. L'organe reproducteur est nommé ascome chez les ascolichens et basidiome pour les basidiolichens (**JAHNS, 1996**).

Cette reproduction implique la rencontre entre les spores issues du mycobionte et un photobionte (**LAGARDE, 2017**).

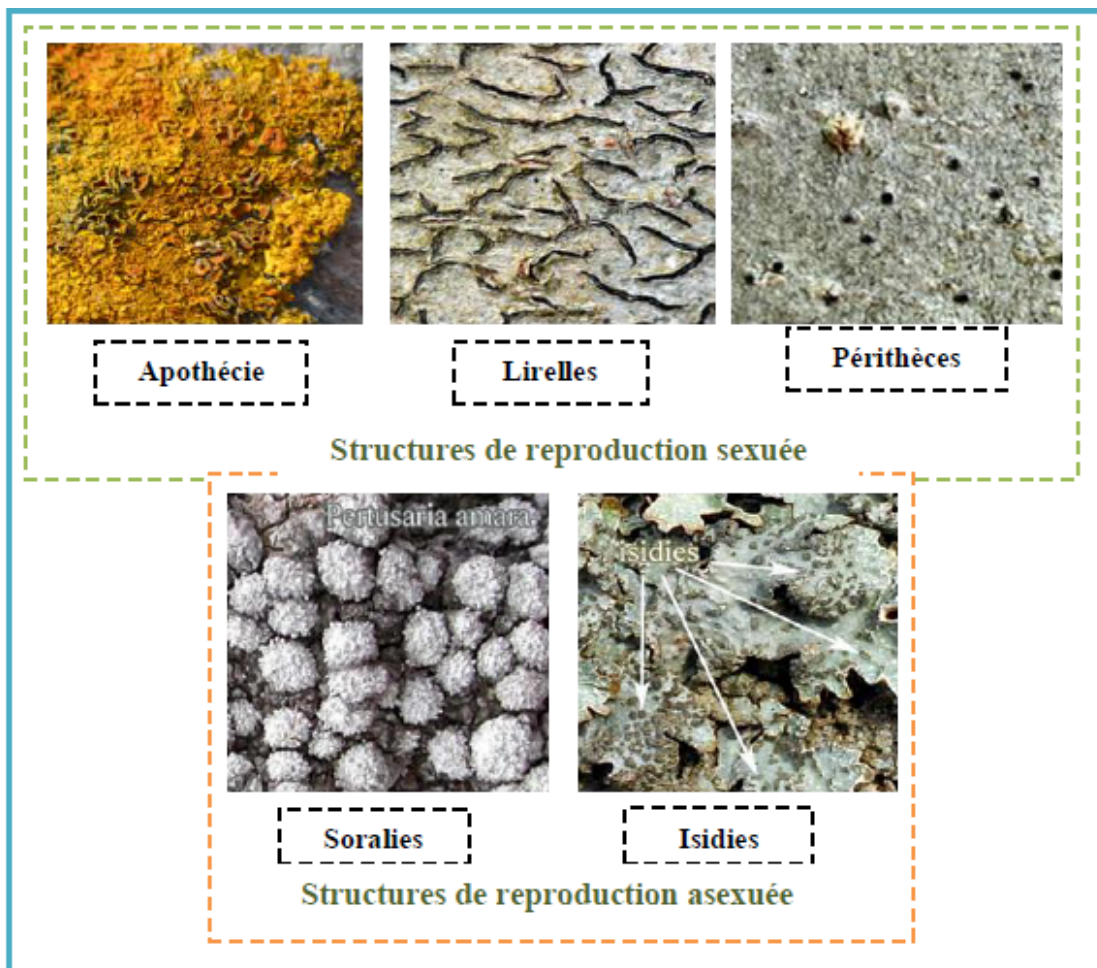
Ces deux hyphes fongique sexuellement différenciés fusionnent et donnent, à la surface du thalle, des structures en formes de boutons (les apothécies), ou de coupes plus ou moins fermées (les périthèces).

Les apothécies : sont très variables par leur taille, leur couleur et leur localisation sur le thalle (**TIEVANT, 2001**).

Les apothécies ont une forme de disque. Elles peuvent être limitées par un rebord de même couleur que le thalle, elles sont dites lécanorine. (Présence de cellules algales) car elles sont caractéristiques du genre *Lecanora*. Si le rebord n'est pas de même couleur, elles sont de types lécideine (absence de cellules algales), caractéristiques du genre *Lecidea*. Elles peuvent avoir une forme allongée, plus ou moins sinueuse, creusée d'un sillon (**LAGARDE, 2017**).

Les périthèces : sont de petites sphères crasses (**HALLUWYN et al ; 2009**) en forme de poires plus ou moins enfoncé dans le thalle ou le substrat. Elle se forme de couleurs sombre parfois incolore à la base.

Il est parfois surmonté d'une couronne. Il s'ouvre sur l'extérieure par l'ostiole, ouverture par laquelle sont libérées les spores (**SERUSIAUX et al ., 2004 ; LE GAC et al ., 2006**).



**Figure6 : Représentation schématiques de certaines structures de reproduction sexuée et asexuée (Gaveriaux, 2009).**

## I-6- La symbiose :

La symbiose est une association mutualiste, relation spéciale entre un champignon et une algue ou une cyanobactérie. Le champignon fournit un environnement protecteur et des nutriments à l'algue, tandis que l'algue effectue la photosynthèse pour produire de la nourriture pour les deux.

### I-7-La biochimie des lichens

Les lichens produisent une large gamme de composés organiques qui sont principalement responsables de l'aptitude de ces espèces à se développer dans les conditions extrêmes.

Le nombre de métabolites lichéniques isolés dépasse les 800 dans l'ouvrage de référence réalisé par **Huneck et Yoshimura** en 1996 et actuellement le nombre de substances lichéniques identifiées dépasserait les 1050 (**Stocker-Wörgötter, 2008**)

**Asahina et Shibata** en 1971 ont été les premiers à proposer la classification des métabolites secondaires issus de lichens sur la base des voies de biosynthèse, modifiée par la suite par (**Culberson et Elix, 1989 ; Elix, 1996**).

Ces composés organiques sont divisés en deux groupes principaux : les métabolites primaires (indispensables au développement et à la reproduction de l'organisme) et les métabolites secondaires (ayant un rôle dans la fonction écologique).

Les 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**).

Ils ne sont pas spécifiques aux lichens et sont également présents chez les champignons, les algues et plantes supérieures (**Shukla et al., 2010**).

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**).

Histologiquement, les métabolites secondaires des lichens sont généralement accumulés dans le cortex, mais ils se retrouvent aussi dans la médulle (**Marques, 2013**), comme exemple l'acide usnique, l'atranorin, les anthraquinones, les dérivés d'acide pulvinique et les xanthonés (**Aprile et al., 2011**).

#### I-7-1-Les voies de biogénèse des métabolites secondaires lichéniques.

Les métabolites secondaires lichéniques peuvent être obtenus via trois voies de biogénèse proposées dans la littérature: la majorité de ces composés sont dérivées de la voie de l'acétate polymalonate ou polycétidesynthase; les autres métabolites secondaires sont issus des voies de l'acide shikimique et de l'acide mévalonique (**Stocker-Wörgötter et al., 2013**).

La figure suivante récapitule ces différentes voies de biosynthèse décrites dans la littérature.

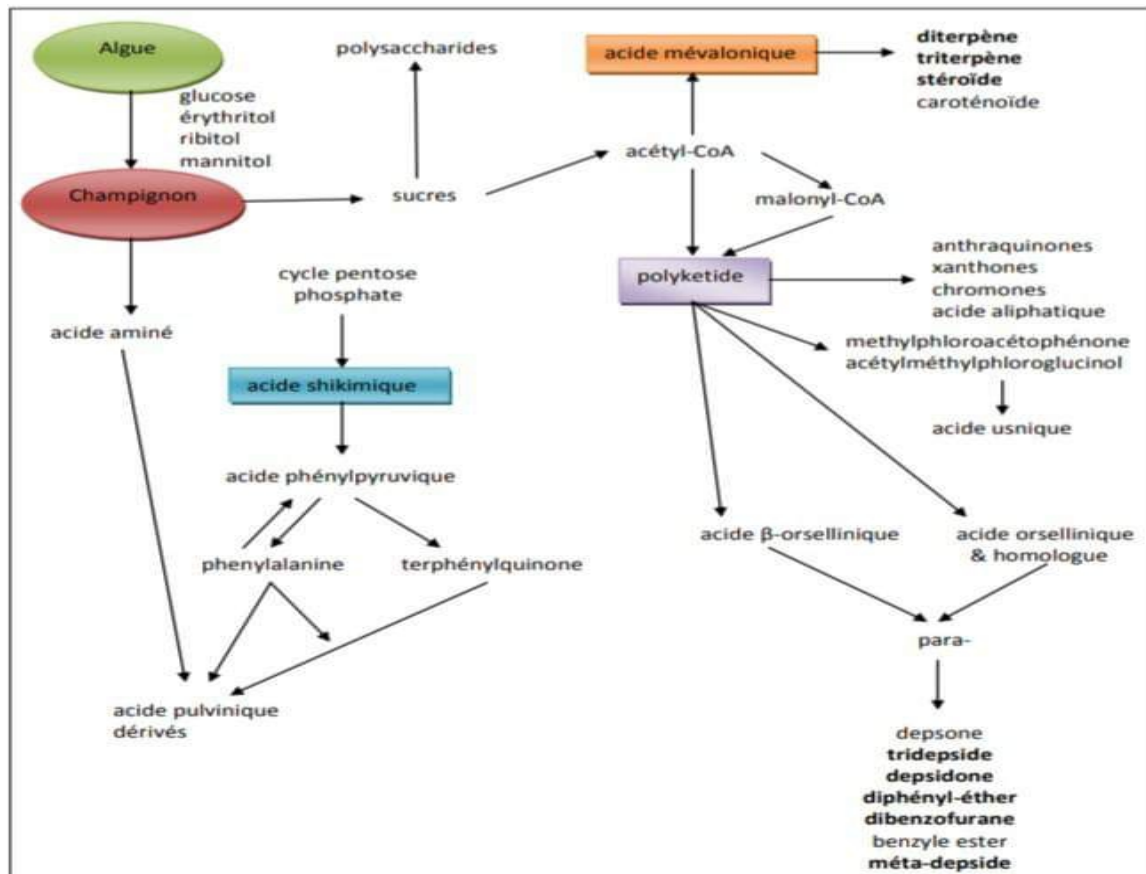


Figure7 : Les différentes voies de biosynthèse des métabolites lichéniques (Elix, 1996).

#### ❖ La voie de l'acide mévalonique

Cette voie conduit essentiellement à la synthèse de mono-, di-, tri-ester- et sesquiterpènes, stéroïdes et caroténoïdes (Huneck, 1999).

Tous ces dérivés proviennent de l'assemblage d'unités isopréniques formées à partir de l'acétylCoA (Romagni et Dayan, 2002). L'isopentenylpyrophosphate (unité en C5), obtenu à partir de l'acide mévalonique, conduit soit au géranylpyrophosphate (unité en C20) précurseur des diterpènes et des caroténoïdes, soit au squalène (unité en C30), précurseur des stéroïdes et triterpènes (Romagni et Dayan, 2002).

Ces composés ne sont pas spécifiques des lichens et sont très souvent présents dans la nature (Romagni et Dayan, 2002).

Parmi les stéroïdes et caroténoïdes présents chez les lichens, l'ergostérol et la zéaxanthine

❖ **La voie de l'acide shikimique :**

Cette voie permet la biosynthèse de certains acides aminés aromatiques (tyrosine, phénylalanine, tryptophane) eux-mêmes précurseurs de produits naturels intéressants composés atypiques, comme l'acide vulpinique et la calycine pigments jaunes, issus des lichens *Lethariavulpina* et *Pseudocyphellariacrocata* (Stocker-Wörgötter, 2008 ; Mosbach, 1964).

La phénylalanine serait le précurseur, via la formation de l'acide polyporique et de l'acide pulvinique (dilactone), lui-même à l'origine de la calycine.

Un autre composé bien connu issu de la voie de l'acide shikimique est l'acide rhizocarpique produit par certaines espèces du genre *Rhizocarpon*. La calycine et l'acide rhizocarpique sont des pigments photoprotecteurs, capables d'absorber les radiations UV.

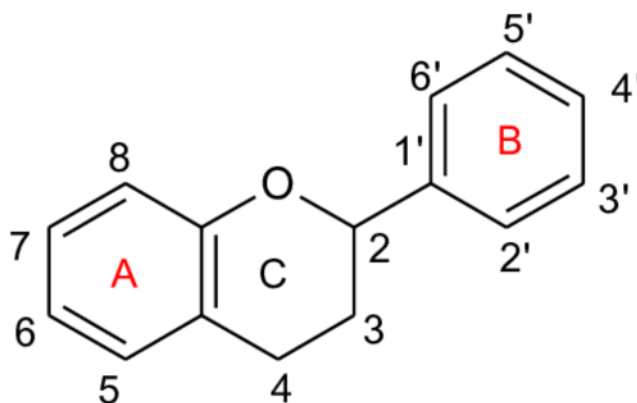


Figure8: Structure de base des flavonoïdes.

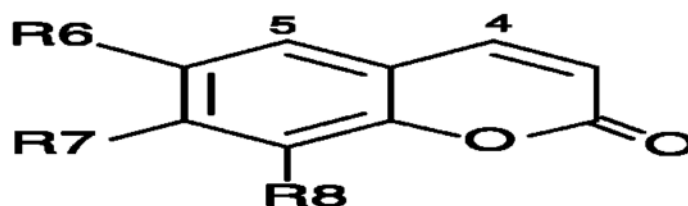


Figure9 : structure de base des coumarines.

❖ **La Voie de l'acétate polymalonate :**

Cette voie permet la biogénèse des depsides, depsidones, depsones, dibenzofuranes, des anthraquinones, xanthonnes et chromones, des acides aliphatiques et des dérivés de l'acide orsellinique (Huneck, 1999). Cette voie de biosynthèse donne des métabolites originaux

propres aux lichens, on trouve :

Les acides aliphatiques qui peuvent être divisés en trois groupes : les  $\gamma$ -lactones (ex: acide lichestérinique), les diacides gras (ex : acide roccellique) et les triacides gras (ex: acide rangiformique)

La formation de ces acides lichéniques résulte de la condensation de type aldolisation d'une longue chaîne alcanoyl-S-CoA avec une unité d'acide cétonique (**Ismed, 2012**).

Les polyacétates aromatiques représentent la majorité des métabolites secondaires présents

Chez les lichens. La synthèse de ces polycétides au sein du champignon serait contrôlée par des complexes enzymatiques multifonctionnels appelés polycétidessynthases (**Eisenreich et al., 2011 ; Kim et al., 2012**). On comme structure de base l'acide orsellinique ou un de ses homologues, qui se condensent sous forme de composés di-, tri- ou tétracycliques. Les composés initiaux sont issus de la condensation des unités acétyl-CoA et malonyl-CoA correspondant à la formation d'une chaîne en C8 qui, par condensation de type aldolisation interne ou condensation de Claisen (**Romagni, 2002**) conduit aux 3 types de composés

Ces composés sont les structures de base des polyacétates aromatiques et se condensent pour former des molécules di-, tri- ou tétracycliques (depsides, depsidones, depsones, dibenzofuranes, acide usnique) (**Andraud-Dieu, 2015**).

### I-8-Ecologie des lichens :

La croissance des lichens est très lente, de l'ordre de 0,1 à 10mm par an exceptionnellement quelques centimètres .elle est plus lente en hiver qu'en été, plus rapide sur substrats riches. L'âge de grands lichens est de l'ordre de plusieurs dizaines d'années pour les lichens foliacés et des plusieurs siècles pour les lichens crustacés de grande taille (GOUJON, 2004).

Les lichens sont des végétaux pionniers qui colonisent tous types de milieux terrestres Ils se rencontrent sous tous les climats et toutes les altitudes, ils sont toutefois plus abondants au nord qu'au sud .La répartition des lichens est influencée par différents facteurs : l'eau, la lumière, la température et le substrat (GOUJON, 2004).

#### facteurs édaphiques ou substratiques :

La nature de substrat est prépondérante, et selon cette nature on distingue :

→Espèces corticoles : qui vivent sur l' écorce des arbres exemple *Pamelia caperata*.

Figure :

→Espèces saxicoles : qui se développent sur des surfaces rocheuses et les toitures, exemple : *Rhizocarpon geographicum*(figure ).

Figure 15 : *Rhizocarpon geographicum* Banque d'image et photos-Alamy

→Espèces terricoles (humicoles) : Ce sont des lichens croissant sur des terres ou des sols de différentes natures (sols alcalins, neutres ou arides).

→Espèces Muscicoles : Qui croissent sur des débris végétaux et des mousses .Ils se rencontrent aussi sur le sol que sur les arbres ou les rochers.

→Espèces lignicoles : Qui se développent uniquement sur les bois, exemple :*Lecanora strobolina* (figure 16).

→Espèces folicoles : Sont presque tous crustacés .Ils se développent sur la surface des feuilles résistantes par le biais du prolongement d' hyphe qui atteignant le parenchyme chlorophyllien.

#### Facteurs climatiques :

Les lichens bénéficient du phénomène de reviviscence, c'est --à--dire qu'ils sont capable de passer de l'état de vie active a une vie ralentie quand ils sont plus hydratés, et ceci pendant une période plus au moins longue, puis en suite de reprendre l'état de vie active quand les conditions redeviennent favorables (TIEVANT, 2001).

□ **L'Humidité** : Certaines espèces ont besoins d'un substrat régulièrement mouillé par les écoulements d'eau de pluies ou par les embruns et quelques-uns exigent d'être périodiquement submergés (SOUCHON, 1971)

□ **La lumière** : Les lichens sont tous des végétaux héliophiles ; seule une minorité d'espèces, comprenant presque exclusivement des lichens a cyanophycées, préfèrent les habitats ombragés, par exemple sous couvert forestier, pour tous les autres lichens, la richesse tant en espèces qu'en individus augmente avec la luminosité des stations, comme on l'observe pour les roches ou les troncs d'arbres isolés. Les lichens ont 4 à 10 fois moins de chlorophylle que les plantes a poids égale, c'est une nécessité pour eux d'avoir des exigences en lumière plus grandes (OZENDA ET CLAUZADE, 1970).

□ **La température** : Son action a deux effets : d'une part l'effet sur l'intensité des fonctions métaboliques et d'autre part la résistance aux conditions extrêmes des températures. -L'action sur le métabolisme : La photosynthèse varie de la même manière en fonction de la température (DESABBAYES et al, 1978) (SERUSIAUX et al, 2004). -la résistance aux températures extrêmes : Elle est tout à fait remarquable surtout du côté des basses températures, mais à l'état desséché la résistance est beaucoup plus considérable.

### **Autres facteurs atmosphériques :**

□ **Le vent** : Son action physiologique est indirecte et se fait par le biais d'une augmentation de la vitesse de dessiccation des thalles .Une action directe, mécanique, et la dispersion des fragments de lichens jouant un rôle important dans la multiplication végétative du lichen (OZENDA et CLAUZADE, 1970).

□ **Les pollutions chimiques** : Les lichens sont extrêmement sensibles, beaucoup plus semble-t-il que les autres végétaux, aux impuretés contenues dans l'atmosphère et en particulier aux fumées et aux poussières industrielles et domestiques, ce qui les élimine des grandes villes et de leurs périphéries mais permet de revanche de localiser ces zones de pollution (OZENDA et CLAUZADE, 1970).

### **Facteurs biotiques** : Ce sont essentiellement :

-La concurrence vitale, s'exerçant entre les lichens eux même et aussi entre les lichens et les autres plantes.

-L'influence de la végétation de bryophytes et de plantes vasculaires qui modifie localement les conditions climatiques et substratiques, créant des micro-climats et des micro-stations.

-L'action des animaux et principalement de l'homme, se manifestent surtout mécaniquement : piétinement, fragmentation des thalles et climatiquement par l'enrichissement de l'atmosphère et du substrat en ammoniac, sels ammoniacaux, nitrate, phosphate (OZANDA et CLAUZADE, 1970).

### I-9-Usage et l'intérêt des lichens:

Selon (OZENDA, 2000). Les lichens ont un rôle important des antiquités. Ont été utilisés comme plantes médicinales alimentaires et artisanaux. Ils ont été employés comme nourriture pour l'homme et l'animal, mais seulement dans les régions très pauvre ou bien les périodes de guerres, et aussi comme une source anti biotiques ou comme indicateurs des conditions de milieu naturel.

#### Usage des lichens:

- \* **L'alimentation humaine:** dans l'alimentation humaine, seule *Cetrariaislandica*, dit "Mousse d'Islande" a été utilisée dans les pays nordiques sous forme de farine mélangée à la farine panifiable ou préparée en bouillie. Plusieurs espèces d'*Umbilicaria* ont été occasionnellement consommées au Canada et Japon. enfin *Lecanoraesculenta* à été utilisé dans les desserts asiatiques. Les lichens peuvent être utilisés dans l'alimentation des animaux tels que les mammifères alpins mais c'est essentiellement dans la nutrition du Renne, le Caribou.
- \* **Utilisation en pharmacie :** les lichens produisent de très nombreux composants chimiques qui sont propres et susceptibles d'avoir des applications pharmaceutiques. Ainsi certaines de ces molécules ont une activité antibiotiques, anti inflammatoires et aussi une propriété photo protectrice (Ozenda, 2000).
- \* **Usage médicaux:** le principal intérêt des lichens en médecine est la possibilité d'extraire des antibiotiques, et aussi une propriété anti bactérienne (les colibacilles) et divers agents de la tuberculose (Ozenda, 2000).
- \* Selon (Souchan, 1971) les lichens présentent aussi une propriété anti tumorales et inhibitrices de la réplication du virus de SIDA. Enfin des substances lichéniques sont encore aujourd'hui utilisées en homéopathie pour la fabrication de sirops et de pastilles (Gac et al, 2006).
- \* **Utilisation comme bio-industrie :** Les lichens ont une écologie très précise de sorte que leur présence dans un milieu naturel est susceptible de donner des indications sur les caractères physiques et chimiques de ce milieu. Ces espèces ont connu autrefois l'appellation « d'hygromètre » car leur abondance fournit à l'hygiéniste un test de salubrité de l'air, et leur carence serait un indice de pollution. (Hauksworth, 1994).

- \* **Usage industriel:** les espèces de lichens peuvent fournir des teintures de haute qualité, dans la fabrication des produits cosmétiques et aussi sont utilisées pour la parfumerie et la décoration. (**Souchon, 1971**).
  - a- **La teinture :** Il s'agit surtout de matières colorantes. Ce sont des substances chimiques de groupe depcide qu'on l'appelle des orseilles. Elles
  - b- **Parfums et cosmétiques:** plusieurs lichens ont été utilisés pour la parfumerie comme « *Everoniaprumastri* » et aussi dans la fabrication de différents parfums de savon et aussi les produits de protection solaire (**Tievant, 2001**).





# Matériels et méthodes

### I-Matériels biologiques

#### I-1- Matériels animales

- *Tribolium confusum* (Ravageur)

##### I-1-1- Systématique

Selon (Jacqueline du val, 1868).Le *Tribolium confusum* est classé comme suit :

**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** : *Tribolium confusum*.



**Figure14** : *Tribolium confusum* vue dorsale(WEB4)

### **I-1-2-Caractères généraux :**

*LeTribolium* 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 verbrun de la farine c'est une espèce d'insectes coléoptères de la famille des Ténébrionidés, à répartition cosmopolite.

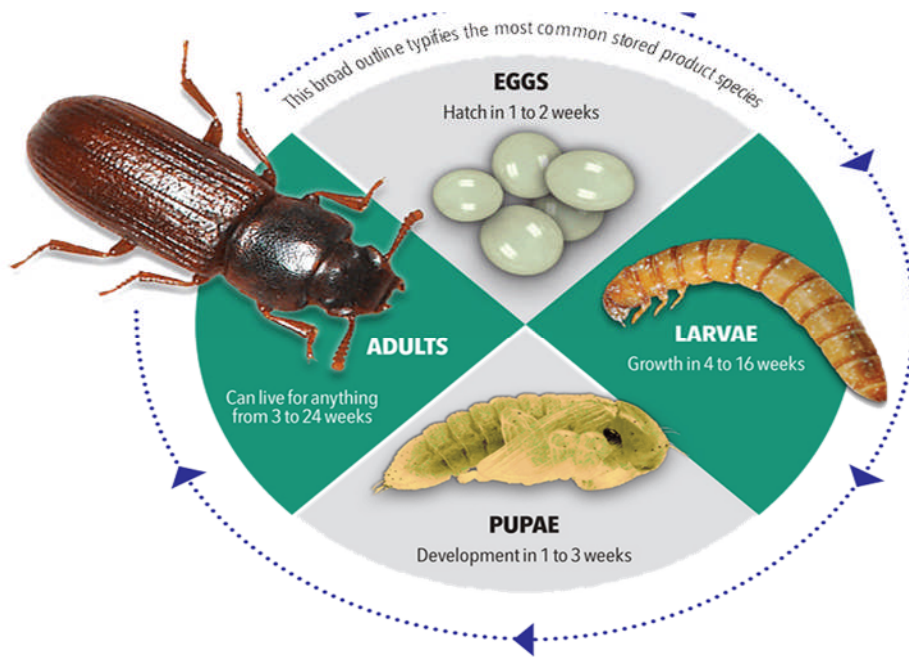
### **I-1-3-Description des différents stades de développement de Triboliumconfusum :**

**L'œuf** : 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 x0.3mm (LEPESM,1944 in BENAZZEDINE,2010).

**La larve** : elle est de couleur blanc crème, 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.

**La nymphe** : elle est blanche et nue les segments de son abdomen sont explantés latéralement en lames rectangulaires à bords crénelé (BALACHOWSKY,1936), (in BENAZZEDINE,2010). la nymphe reste sans protection et est incapable de se déplacer.

**L'imago (adulte)**: il porte trois paires de pattes attachées aux segments suivant immédiatement la tête



**Figure15 : cycle de développement chez *Tribolium confusum* (web5)**

#### **I-1-4. Les dégâts causés par *T. confusum***

Ces insectes ont un régime très polyphage. Le *Tribolium* attaque les grains endommagés ou brisés. On le trouve 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. Souvent, Matériels et méthodes 14 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, les adultes peuvent cannibaliser tous les stades sauf les adultes (Anonyme, 2001).

#### **I-2- Matériels végétales**

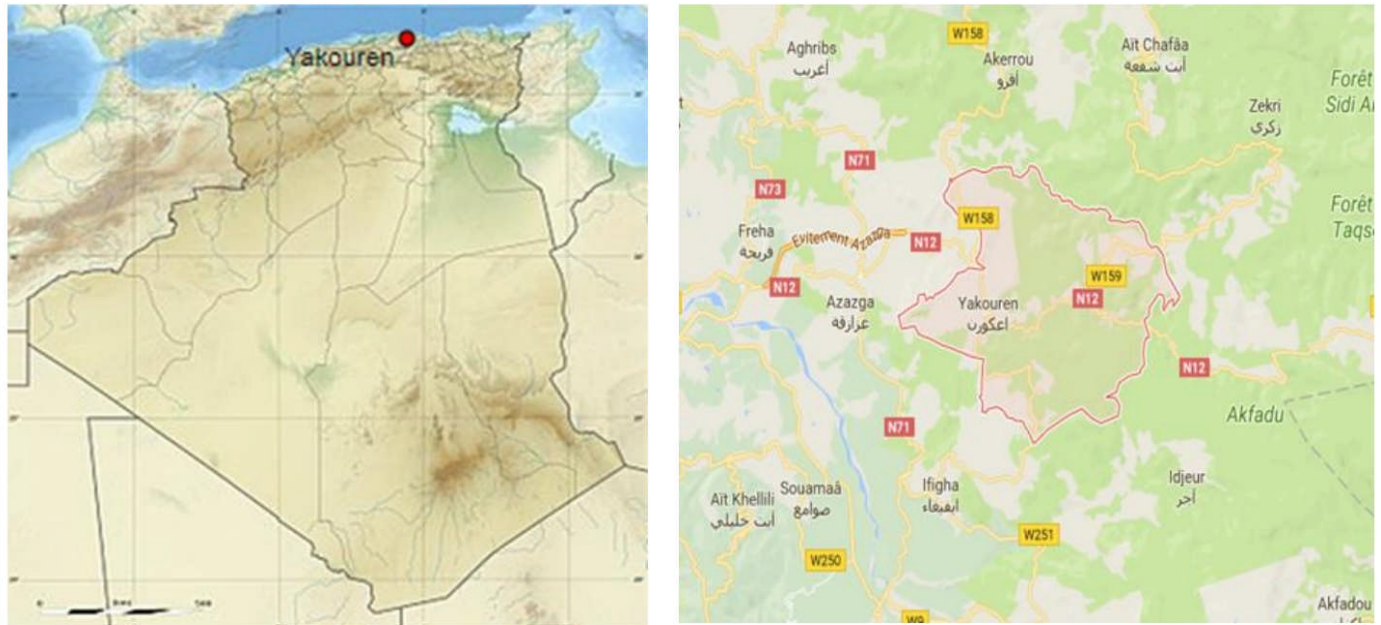
##### ➤ *Cladonia portentosa*

Le matériel végétal utilisé dans notre étude est constitué de l'espèce lichénique '' *Cladonia portentosa* '' été récolté au mois de mai 2023, le prélèvement a été effectué au niveau de la région de Yakouren, elle est située à 46 KM à l'est de Tizi-Ouzou et à 11 km de l'est, elle est connue pour son massif forestier riche en chaîne-liège

La délimitation du territoire de la commune d'Azazga est donnée comme suit

- Au Nord par les communes d'Aghribs, Akerou

- Au Sud par les communes d'Ifigha et Souamaa.
- A l'Ouest par la commune de FrehaMekla.
- A l'Est par les communes de Yakouren



**Figure16:** Carte de la situation géographique de la zone d'étude (Yakourene).

### I-2-2-Systématique

Selon (Dufour., 1985), *Cladonia portentosa* est classé comme suit :

**Régne :** Fungi

**Embranchement :** Ascomyte

**Classe :** Lecanoromycetes

**Ordre :** Lecanorales

**Famille :** Cladoniaceae

**Genre :** *Cladonia*

**Espèce :** *Cladonia portentosa*

### I-2-3- Définition/

*Cladonia* (du grec klados « rameau », allusion aux ramifications du thalle secondaire de certaines espèces) est un genre de champignons lichénisés comportant de très nombreuses espèces. Il s'agit toujours de formes dressées et essentiellement terricoles, c'est-à-dire se développant sur un sol.

### I-2-4 Description de *cladonia*

Les *Cladonia* sont associés à des algues vertes du genre *Asterochloris*. Ils comportent un thalle primaire encroûtant ou formé d'éléments foliacés (squamules), appliqué sur le substrat. Le thalle primaire peut disparaître ou persister et, dans ce cas, coexister avec le thalle secondaire et éventuellement le dominer (**web2**).

Le thalle secondaire, partie généralement la plus visible du lichen, est formé de tiges se dressant à partir du thalle primaire auquel elles sont fixées soit de façon permanente, soit pendant une partie de leur développement : ces tiges sont nommées « podetium » ou « podétions » (**web2**).

Les podétions sont des structures creuses qui portent à leurs extrémités les apothécies productrices de spores. Ils sont tantôt simples, tantôt ramifiés. Chez les espèces autrefois classées dans le genre *Cladina*, la croissance se poursuit pendant des durées considérables et aboutit à des ramifications enchevêtrées très complexes (**web2**).

Situées en position terminale, les apothécies mettent fin à la croissance des podétions. Elles sont parfois vivement colorées, variant du jaune pâle au rouge vif, les couleurs les plus fréquentes étant les bruns (**web2**).



**Figure 17 : *Cladonia portentosa* (web5)**

## II-Méthodologie :

### II-1- La récolte de lichen :

L'espèce choisie *Cladonia portentosa* a été récoltée au niveau de la région de Yakouren.

### II-2-La conservation de l'échantillon lichénique :

L'espèce récoltée a été conservée à une température ambiante dans le but de le sécher.

### II-3- La préparation du matériel végétal :

On a séché l'échantillon récolté à l'air ambiant pendant 72 heures ensuite on a broyé l'échantillon pour le réduire en poudre à l'aide d'un mortier afin d'augmenter la surface de contact avec le solvant ainsi favoriser l'extraction des composés.

### II-4-Préparation de l'extrait lichénique

- Macération : la technique de macération qui consiste à faire imprégner 0.3g de la poudre de l'espèce lichénique dans un solvant polaire 10ml (acétone) et 10ml de solvant apolaire (hexane) pendant quelques heures pour en extraire les composés solubles (extraction solide liquide) et agiter le mélange au cours de l'extraction (pour garantir une homogénéisation).
- Extraction : l'extraction a été effectuée selon le protocole décrit dans la figure14 (annexe1), Les extraits obtenus sont ensuite réunis séparément, puis filtrés en utilisant du papier filtre (**Watman**). Les résidus secs obtenus sont évaporés à une température ambiante puis conservés pour une utilisation ultérieure.



**Figure18 : Extrait lichénique avec de l'acétone (photo prise au niveau de laboratoire biologie physiologie végétal UMMTO)**

### II-5- Activité bio insecticide de la poudre lichénique :

Nous avons utilisé la poudre lichénique *Cladonia portentosa* sur le ravageur du blé, ces derniers servent à évaluer l'activité bio insecticide dans les conditions de laboratoire.

Nous avons introduits 50g du blé dans chaque boite en plastique contenant préalablement des adultes de ravageur *tribolium confusum* nous avons mis 20 individus dans chaque boites, et nous avons ajouté des quantités différentes de la poudre lichénique de *cladonia portentosa* en gramme : 4g ;6g ; 8g ; 12g .

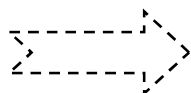
Une boite témoin (0) g ne contient que la semoule et les 20 individus d'insectes sans ajouter la poudre lichénique. Un comptage des individus morts est effectué chaque jour, les insectes morts sont éliminés de la boite après chaque comptage.



**Figure 19: Photo des boites contenant la poudre lichéniques à différentes doses de la poudre de Cladonia et de semoule et les insectes (photo prise au niveau de laboratoire biologie physiologie végétal UMMTO)**

### II-6-Rendement d'extraction

$$RE\% = PF/PI * 100$$



RE% : pourcentage de rendement d'extraction

PF : Poids final en gramme

PI : poids initial en gramme (g) de la prise d'essai

### II-7-La chromatographie sur couche mince CCM.

#### II-7-1 Description de la technique :

La **chromatographie sur couche mince** ou CCM est une technique de chromatographie planaire dont la phase mobile est liquide. Elle est couramment utilisée pour séparer des composants dans un but d'analyse (CCM analytique) ou de purification (**Burgot, 2022**)

Elle comprend :

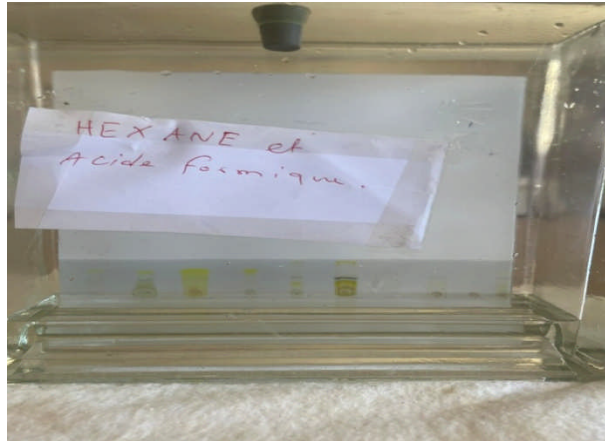
- **une phase stationnaire** : une couche mince de matériel absorbant
- **une phase liquide**, dite phase mobile ou éluant : un solvant ou un mélange de solvants qui va entraîner les composés à se séparer le long de la phase stationnaire.

✓ Préparation de la cuve :

- Dans une cuve, nous avons introduit un mélange de solvant
- Pour notre test chromatographique nous avons utilisé deux systèmes de solvant :

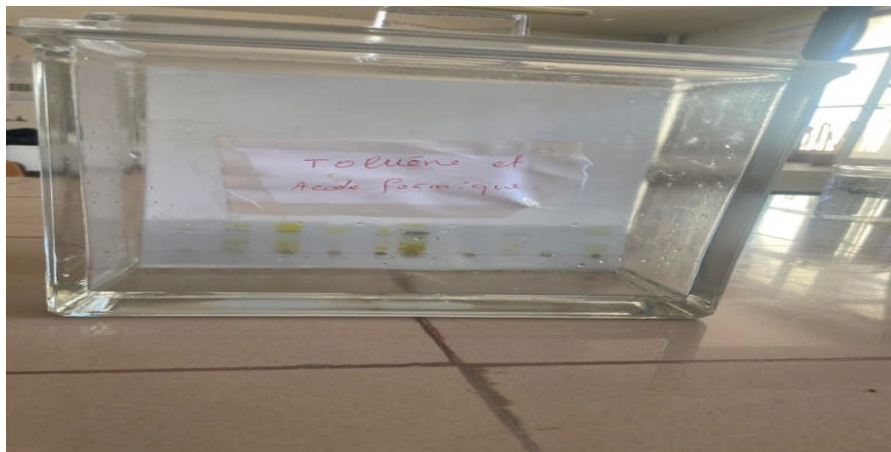
**-Pour la 1er CCM** :(130ml d'hexane ,20ml d'acide formique et 80ml de diethylether) c'est la phase mobile.

**-Pour la 2eme CCM**, dans la phase mobile nous avons utilisé (135ml de toluène et 20ml d'acide acétique).



**Figure20 : Chromatographie sur couche mince réalisé avec l'hexane et l'acide formique et diethylether**

**(Photo prise au niveau de laboratoire biologie physiologie végétal UMMTO)**



**Figure21: Chromatographie sur couche mince réalisé avec l'hexane Toluène et l'acide formique**

**(Photo prise au niveau de laboratoire biologie physiologie végétal UMMTO)**

#### **II-7-2-Préparation de la plaque chromatographique :**

- -Nous avons tracé avec un crayon un trait de départ à 2cm du bas de la plaque
- -Sur ce trait tracer des petits points à 1 cm de distance où seront déposées les taches
- -A l'aide d'une micropipette nous avons mis 5 gouttes pour chaque extrait lichénique, un pour l'acétone et l'autre pour l'hexane
- Nous avons laissé la plaque pendant 40 min, après l'avoir sortie de l'étuve nous avons fixé à l'aide de révélateur « 10% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ».

- La plaque est introduite dans une étuve à 100°C environ 15 min.

Les taches apparaissent dès la sortie de la plaque de l'étuve, elles sont ensuite entourées au crayon afin de les identifier.

### ✓ Paramètre calculé

À partir du centre de dépôt initial jusqu'au centre du spot de la substance, le rapport frontal (RF) est calculé par l'équation :

$$\mathbf{RF} = \frac{\text{La distance parcourue par la substance (d)}}{\text{La distance parcourue par le solvant (D)}}$$

Les distances sont mesurées après migration

Après les RF obtenus à l'aide du tableau de (WHITE & JAMES, 1965) nous permet de reconnaître de quelle substance s'agit-il.

### **II-8. La microcristallisation :**

Pour compléter la CCM, nous avons utilisés une autre méthode qui est la microcristallisation ou dite aussi méthode « d'ASAHINA », qui consiste à cristalliser les substances lichéniques présentes dans notre échantillon, en utilisant des réactifs dit réactifs cristallogènes. Des cristaux caractéristiques de la substance lichénique se forment ensuite on les observe à l'aide d'un microscope équipé d'une lumière polarisé (GAVERIAUX, 2003).

Pour cette technique nous avons besoin des extraits lichénique obtenus par l'acétone et l'hexane, nous les ajoute des réactifs cristallogènes après les avoir préparé.

La préparation des réactifs cristallogènes :

GE → 3ml du glycérol + 1ml d'acide acétique glacial.

GAW → 1ml du glycérol + 1ml de l'eau distillé + 1ml éthanol.

GAoT → 1ml de toluidine + 2ml glycérol + 2 ml Ethanol.

GAAAn → 1ml d'Aniline + 2 ml du Glycérol + 2 ml de l'Ethanol.

KK → hydroxyde de potassium (KOH) 5g.

### **Le mode opératoire :**

1- Régler la plaque chauffante à environ 40-50°C.

2- Nous avons pris une lame et déposer quelques gouttes de l'extrait lichénique obtenu par l'acétone.

3- Nous avons ajouté quelques gouttes de réactif cristallogène sur le dépôt.

4- Couvrir à l'aide d'une lamelle.

5-Déposer la lame sur la plaque pendant quelques minutes.

6- Refaire la même chose pour l'extrait lichénique obtenu par l'hexane.

7-Après avoir enlevé la lame de la plaque lutter avec du vernis à ongle transparent afin que la lamelle ne bouge pas.

8-Passer à l'observation.

L'observation des cristaux se fait à des grossissements 50 ; 100 ; 400 en lumière polarisée.

9-Après avoir eu des formes des cristaux nous les avons comparé avec d'autres travaux réalisés au pare avant et ça nous a aidé d'identifier de quel substance s'agit-il.

# Résultats et discussions

## Chapitre IV Résultats et discussions

IV-1 Résultats de l'activité bio-insecticide de la poudre lichénique de :

Les résultats obtenus après la mise en contact des insectes *Tribolium confusum* avec la poudre lichénique de *Cladonia portentosa* après différentes heures d'exposition allant des 24h jusqu'à 168 h sont mentionner dans les tableaux suivantes :

Tableau1 : le taux de mortalité pour la dose 0g (témoin).

Heures	24H	48H	72H	96H	120H	144H	168H
Le nombre de mortalité	0	0	0	0	0	01	0

Tableau 2 : le taux de mortalité en % pour la dose 0g (témoin).

Heures	24H	48H	72H	96H	120H	144H	168H
Pourcentage de mortalité pour le témoin	0%	0%	0%	0%	0%	05%	0%

Nous avons constatées que le taux de mortalité est nulle avant les 144H, puis elle augmente légèrement au bout de 6ème jours (144H) puis elle se diminué dans le 7ème jours, nous avons qu'un seul ravageurs qui est mort alors que les autres rester vivant.

Tableau3 : le taux de mortalité pour la dose 4g

Heures	24H	48H	72H	96H	120H	144H	168H
Le nombre de mortalité	00	00	00	00	00	01	00

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

Heures	24H	48H	72H	96H	120H	144H	168H
Pourcentage de mortalité pour la dose 4g	0%	0%	0%	0%	0%	05%	0%

On voit que pendant 5 jours (120H) nous n'avons enregistré aucune mortalité, mais au bout des 144h nous avons constatés une augmentation légère dans le nombre de mortalité.

Tableau5 : le taux de mortalité pour la dose 6g

Heures	24H	48H	72H	96H	120H	144H	168H
Le nombre de mortalité	00	00	3	5	2	01	02

## Chapitre IV Résultats et discussions

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

Heures	24H	48H	72H	96H	120H	144H	168H
Pourcentage de mortalité pour la dose 6g	0%	0%	15%	25%	10%	05%	10%

Dès les 72h nous avons enregistré une mortalité qui égale à 15% et au bout des 96h nous enregistrons un pic qui égale à 25%, au bout de 120H on remarque une diminution de taux de mortalité (10%) pour 120H et 5% pour le 7ème jour.

Tableau 7: les résultats obtenus pour la dose 8g.

heures	24H	48H	72H	96H	120H	144H	168H
Le nombre de mortalité	00	01	04	06	00	03	00

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

Heures	24H	48H	72H	96H	120H	144H	168H
Pourcentage de mortalité pour la dose 8g	0%	5%	20%	30%	00%	15%	00%

Ce taux de mortalité on le constate avec un pic de 30% au bout de 96H et le maximum c'est au bout des 96H, on remarque une diminution de taux de mortalité (00%) pour 120H. au 7ème jours on remarque une ré-augmentation de taux de mortalités.

Tableau 9: les résultats obtenus pour la dose 12g.

heures	24H	48H	72H	96H	120H	144H	168H
Le nombre de mortalité	02	00	07	05	04	08	02

Tableau 10 : le taux de mortalité en % pour la dose 12g

Heures	24H	48H	72H	96H	120H	144H	168H
Pourcentage de mortalité pour la dose 12g	10%	0%	35%	25%	20%	40%	10%

12g c'est la plus grande dose quand on a utilisé, déjà dans les 72H on a enregistré une mortalité élevée avec un pic au bout de 144H a 40%.

## Chapitre IV Résultats et discussions

Tableau 11 : tableau global pour les cinq doses.

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

Tableau 12 : tableau globale de taux de mortalité en pourcentage pour les cinq doses.

Heure	24H	48H	72H	96H	120H	144H	168H
% de mortalité pour 0g	0%	0%	0%	0%	0%	5%	0%
% de mortalité pour 4g	0%	0%	0%	0%	0%	5%	0%
% de mortalité pour 6g	0%	0%	15%	25%	10%	5%	10%
% de mortalité pour 8g	0%	5%	20%	30%	0%	15%	0%
% de mortalité pour 12g	10%	0%	35%	25%	20%	40%	10%

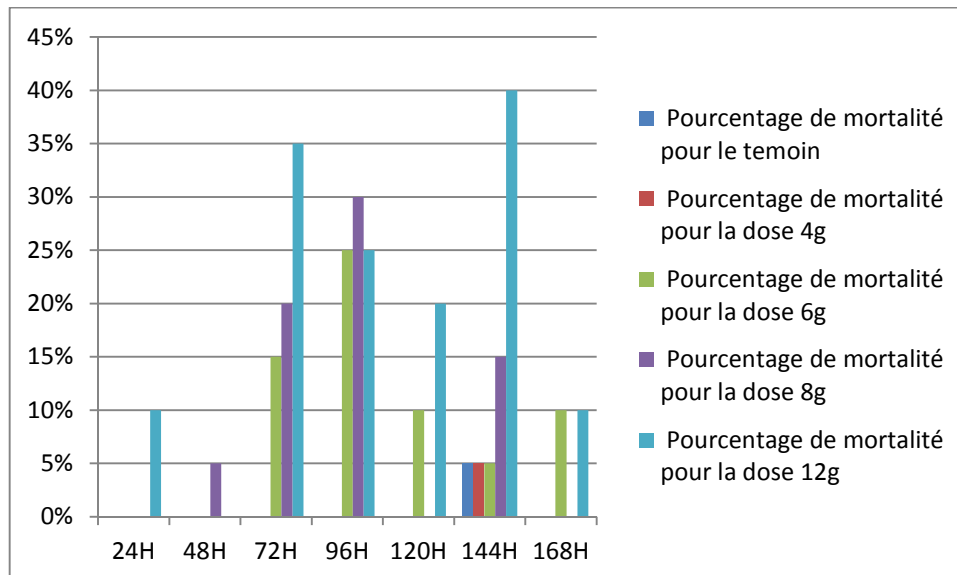


Figure 25 : le taux de mortalité en pourcentage en fonction du temps pour les cinq doses.

La figure 25 : représente un histogramme globale de taux de mortalité en pourcentages des ravageurs de semoule, traité par les cinq doses (0 g ; 4 g ; 6 g ; 8 g ; 12 g) de la poudre de *Cladonia portentosa* pendant 168h

## Chapitre IV Résultats et discussions

---

Nous avons constaté que le pourcentage de mortalité augmente en fonction de la dose à l'effet de la poudre lichénique de *Cladonia portentosa*

Pour la dose de 4 g le taux de mortalité est apparait jusqu'à 5 % dès les 144 heures d'exposition

Pour la dose de 6 g le taux de mortalité est 25% dès les 72 heures jusqu'à 168 heures d'exposition

Pour la dose de 8 g est taux mortalité attient les 30% dès les 96 heurs d'exposition.

Pour la dose de 12 g un taux de mortalité élevé durant la durée d'exposition à un taux qui arrive 35% dès les 72 heurs qui atteignent 40% dans les 144 heures.

### **IV-3-Résultats de la microcrisstallisation de la poudre lichénique :**

La microcrisstallisation a montrée la présence d'un composé majoritaire chez notre espèce qui es l'acide perlatolique apparait avec des formes différentes selon le réactif cristallogène utilisé.

Tableau 13 : Résultats de la microcrisstallisation avec différents réactifs cristallogène.

- Les observations sont réalisées au microscope optique à l'aide d'une lumière polarisée et au microscope photonique au grossissement \*40


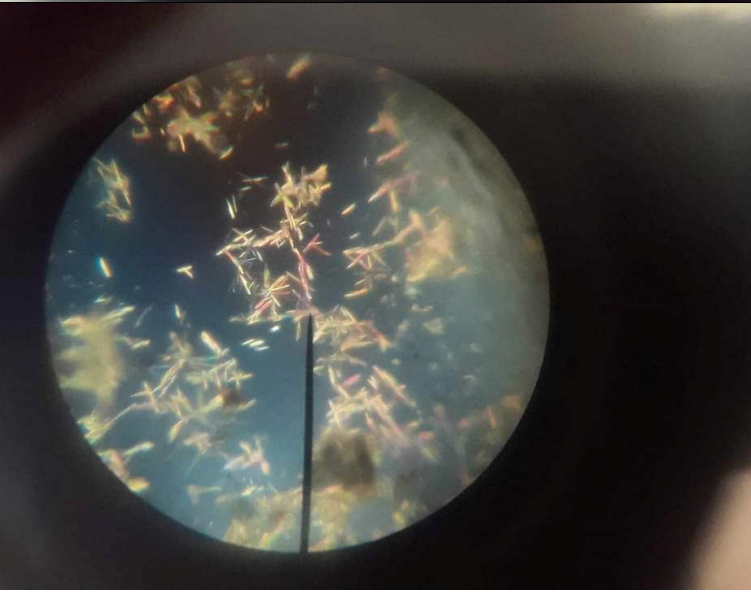
Le réactif cristallo-gène utilisé	Extrait lichénique de <i>cladonia portentosa</i> avec de l'acétone
GAW	
GE	

Figure 26: photos de résultats de micro cristallisation de l'acétone  
(Photo prise au niveau de laboratoire biologie physiologie végétal UMMTO)  
Photo prise à l'aide d'un microscope photonique optique au grossissement \*40  
à l'aide d'une lumière polarisée

### Résultats de la chromatographie sur couche mince:

La présente CCM nous a permis l'identification des substances chimiques qui correspondent à notre espèce *cladonia portentosa*



**Figure 27** : Résultat de la plaque chromatographique

Unité de mesure en (cm) de	<b>Cladonia.P</b>	
	Par acétone	Par hexane
	10.1	10
Rfs des extraits	0.918	0.909

**Tableau13** : valeur de R<sub>Fc</sub> de l'espèce de *cladonia portentosa*

D'après les résultats obtenus par la technique de chromatographie sur couche mince nous avons remarqués qu'elle possède une substance de son composé majoritaire nommée l'acide perlatolique.

### IV-2-Discussions

Dans notre étude nous avons observé une mortalité des ravageurs de *Tribulium confusion* de blé dur, traité par des différentes doses (0g, 4g, 6g, 8g, 12g.) de la poudre lichéniques de *Cladoniaportenosia*.

À la dose de 0g, (témoin) la mortalité est nulle nous avons observé que dès les 144h jusqu'à 168h un taux de mortalité de 5 %

## Chapitre IV Résultats et discussions

---

Le pourcentage de rendement d'extraction pour la dose de 4 g est 57.5 % à taux de mortalité de 5 % débute les 144 heures (Voir annexe 2 pour la méthode de calcul)

Le pourcentage de rendement d'extraction pour la dose de 6 g est 63.3% à taux de mortalité de 25%.

Le pourcentage de rendement de l'extraction pour la dose de 8 g est 68.7% taux de mortalité de 30%

Le pourcentage de rendement d'extraction de 12 g est 78.3% taux de mortalité de 40%

D'après les résultats obtenus ont a démontré que le taux de la mortalité est proportionnel augmenter avec l'augmentation de la dose appliquée montre que l'extrait de la poudre à base de *Cladonia portenosia* présente une suprématie de toxicité sur les ravageurs de denrées alimentaire *Tribulium confusion* qui dépend du temps et aussi des fortes doses pour avoir une mortalité

En effet le taux de mortalité de cet insecte est observé à la dose de 12 g de la poudre dans le rendement d'extraction des substances est R% qui est beaucoup plus important que dans les autres doses.

D'après les résultats obtenus par la technique de chromatographie sur couche mince nous constatons que l'espace de *Cladonia portenosia* elle possède une substance de son composé majoritaire visuellement nommé acide perlatonique.

D'après les résultats de la chromatographique sue une couche mince nous avons vue une tache de couleur brun rouge dans l'extrait d'acétone et une tache plus foncées du même colleur dans l'extrait de l'hexane et une substance lichénique avec les mêmes RFs pour les solvants acétone et hexane.

La microcrisstalisation à montré la présence d'une substance d'un composé majoritaire visuellement chez notre espèce qui est l'acide perlatolique.

# Conclusion

Les lichens sont des organismes fascinants qui résultent de la symbiose entre un champignon et une algue. ILS jouent un rôle important dans les écosystèmes fournissant de la nourriture et en contribuant à la formation des sols. Leurs capacités à survivre dans des environnements extrêmes en fait des indicateurs de la qualité de l'air.

La lutte intégrée contre les ravageurs des denrées alimentaires est une stratégie à long terme des bio-agresseurs qui minimise les risques pour les populations, l'écosystème et l'environnement.

Dans ce concept notre étude réalisée sur l'effet bio-pesticides des substances lichéniques de *cladonia portentosa* sur un ravageur des denrées alimentaires *Tribolium Confusum* a montré que ces bio pesticide lichéniques ont un effet diminutif significatif sur ces ravageurs de denrées alimentaire, cela suggère que le bio pesticide obtenu par le lichen *cladonia* a un effet perturbateur sur ces insectes nuisible, ces résultats ouvrent de nouvelle perspectives dans le domaine de la lutte biologique contre les ravageurs agricoles

# Références bibliographiques

## Référence bibliographiques

---

**Abbeyes, H.** (Des). 2010. In Lichens. Logiciel Encyclopaedia Universalis [DVD] :Version 16.00. Paris : s.n.

**Andraud-Dieu, A.** (2015). Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique: Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs (Doctoral dissertation, Université de Limoges).

**Aprile, G. G.;** Catalano, I.; Migliozzi, A.; Mingo, A., Monitoring epiphytic lichen biodiversity to detect environmental quality and air pollution: the case study of Roccamonfina Park (Campania Region - Italy). In Air Pollution - New Developments, Anca Maria Moldoveanu, Ed. 2011, 227-244.

**Asahina, Y.,** Shibata, S. (1971). Chemistry of lichen substances. Japan Society for the Promotion of Science, Asher & Co. Ltd. (Vaals), Ed. p 165.

**Culberson, C. F., J. A. Elix.** (1989). Lichen substances. Methods in Plant Biochemistry. J. B. Harborne. London, Academic Press. Vol. In Plant Phenolics: 509- 532. 37.

**Eisenreich, W., Knispel, N., & Beck, A.** (2011). Advanced methods for the study of the chemistry and the metabolism of lichens. *Phytochemistry Reviews*.10(3) :445.

**-Elix, J.A.**(1996). Biochemistry and secondary metabolites. In Lichen biology. Nash T. H., Ed. Cambridge University Press, Cambridge. pp 154-180.

**-Huneck, S.** (1999). The significance of lichens and their metabolites. *Naturwissenschaften*. 86(12) :559-570.

**Ismed, F.** (2012). Phytochimie de lichens du genre *Stereocaulon*: étude particulière de *S. Halei* Lamb et *S. montagneanum* Lamb, deux lichens récoltés en Indonésie (Doctoral dissertation, Université Rennes 1).

**Kim, J.A., Hong, S.G., Cheong, Y.H., Koh, Y.J., Hur, J.S.** (2012). A new reducing polyketide synthase gene from the lichen-forming fungus *Cladonia metacorallifera*. *Mycologia*. 104(2) :362-370.

**Le gace ,Miraless B. M., Brosseau L., et Dechampeaux.**2006.Les lichens : Structure, écologie et intérêt. Th. lice. : UFR SVE : Univ. De Rennes 1, 135p.

**Le Pogam-Alluard, P.** (2016). Analyses de lichens par spectrométrie de masse: déréplication et histolocalisation (Doctoral dissertation, Université Rennes 1).

nl'académie d'Amiens,1996. ISSN 0150-0171.

**Ozenda P. et Clauzade G.** 1970. Les Lichens, étude biologique et flore illustrée.Paris-VIe : Masson et Cie.1970. 800 p.

**Ozenda.P et etClauzade.G.** (1970).les lichens étude biologique et flore illustrée. Edition : Masson, P.18-23,106-120.

## Référence bibliographiques

---

**Romagni, J. G. Dayan, F. E. (2002).** Advances in Microbial Toxin Research and Its Biotechnological Exploitation R.K. Upadhyay (Ed.), 151-169.

**Romagni, J. G. Dayan, F. E.(2002).** Advances in Microbial Toxin Research and Its Biotechnological Exploitation R.K. Upadhyay (Ed.), 151-169.

**Shukla, V., Joshi, G.P., &Rawat, M.S.M. (2010).** Lichens as a potential natural source of bioactive compounds: a review. *PhytochemistryReviews*.9(2) :303-314.

**Stocker-Wörgötter, E. (2008).** Metabolic diversity of lichen-forming ascomycetous fungi: culturing, polyketide and shikimate metabolite production, and PKS genes. *Natural product reports*. 25(1):188-200.

**Stocker-Wörgötter, E. (2008).** Metabolic diversity of lichen-forming ascomycetous fungi: culturing, polyketide and shikimate metabolite production, and PKS genes. *Natural product reports*. 25(1):188-200.

**Stocker-Wörgötter, E., Cordeiro, L. M. C., &Iacomini, M. (2013).** Accumulation of potential pharmaceutically relevant lichen metabolites in lichens and cultured lichen symbionts. In *Studies in Natural ProductsChemistry*. 39:337-380.

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

**Van-Haluwyn, C., J. Asta, et al. (2009).** Guide des lichens de France : lichens des arbres. Paris.

**Van-Haluwyn. C et LEROND. M. (1993).**Guide des lichens .Edition .le chevalier .paris.

### Webographie

Web 1 : <https://www.kloranebotanical.foundation/la-botanique/dossiers/champignons-et-lichens/quest-ce-quun-lichen> consulté le 20/08/2023

Web 2 : <https://www.encyclopedie-environnement.org/vivant/lichens-surprenants-organismes-pionniers/> consulté le 20/08/2023

Web3: <https://www.nature.com/articles/s41437-021-00420-1> consulté le 15/08/2023

WEB4 [https://fr.wikipedia.org/wiki/Tribolium\\_confusum](https://fr.wikipedia.org/wiki/Tribolium_confusum) 17/08/2023

Web5 : <https://fr.wikipedia.org/wiki/Cladonia> consulté le 17/08/2023

# Annexes

## Annexe 1







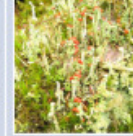

<i>Xanthoria parietina</i>	<i>Usnea florida</i>	<i>Lecanora concolor</i>	<i>Bagliettoa cazzae</i>	<i>Lathagrium cristatum</i>	<i>Squamarina cartilaginea</i>	<i>Cladonia polydactyla</i>	<i>Lepraria membranacea</i>
							
<p>Thalle en forme de feuille (foliacé)</p> <p>Se détache facilement du substrat</p>	<p>Thalle fruticuleux plus ou moins ramifié et pendant</p> <p>Surface de contact réduite avec le substrat</p>	<p>Thalle en forme de croûte (crustacé)</p> <p>Ne peut être détaché qu'à l'aide d'un marteau et d'un burin</p>	<p>Thalle en forme de croûte (crustacé)</p> <p>Ne peut être détaché qu'à l'aide d'un marteau et d'un burin</p>	<p>Thalle solide, noir et cassant à l'état sec</p> <p>Devient gélatineux sous l'action de la pluie</p>	<p>Thalle squamuleux. Formé de petites écailles (ou squamules) imbriquées comme les tuiles d'un toit</p>	<p>Complexe :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- thalle primaire très adhérent au substrat</li> <li>- thalle secondaire dressé (ou podétion) en forme de trompette ou de tiges</li> </ul>	<p>Thalle lépreux, à l'aspect farineux</p>
<p>Fixé sur les écorces des arbres isolés riches en poussières</p>	<p>Surtout sur troncs et branches des feuillus en forêts humides ou sur arbres isolés</p>	<p>Encroûtant, adhère aux rochers siliceux d'altitude</p>	<p>Encroûtant, fréquent sur parois calcaires ensoleillées du midi</p>	<p>Fixé sur des rochers calcaires</p>	<p>Recherche les rochers ou les sols calcaires. Commun dans le midi.</p>	<p>Sur bois pourri, à la base des troncs moussus, recherche l'humidité et la lumière</p>	<p>Sur escarpements rocheux siliceux ombragés et en atmosphère humide, parfois sur sol ou mousse</p>

Figure 2 : Principaux types de lichens à travers quelques exemples (web2)

Annexe 2

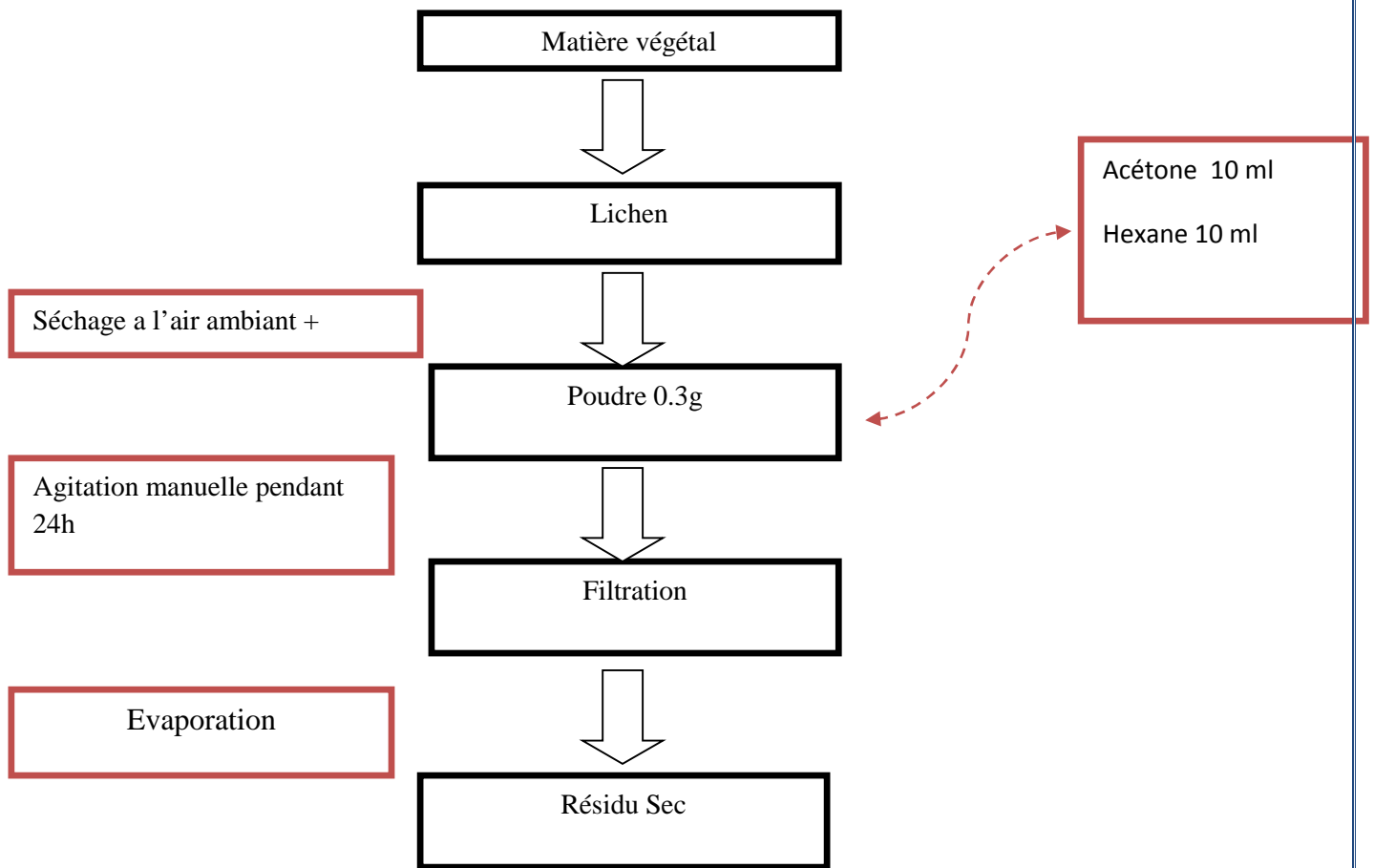


Figure 14 : Protocole de préparation de l'extrait lichénique

### Annexe 3

Les résultats obtenus pour le rendement :

Pour La dose 4g : 71,66%

- Le poids initiale =4g
- Poids finale=2.3g

Calcul  $R = 2.3 / 4 * 100$

R=57.7%

La dose 6g poids final 3.8g le rendement =63.3%

La dose 8g poids final 5.5g le rendement =68.7%

La dose 12g poids final 9.4g le rendement =78.3%

**Résumé :**

Les lichens sont des organismes fascinants qui résultent de la symbiose entre un champignon et une algue. Ils jouent un rôle important dans les écosystèmes fournissant de la nourriture et en contribuant à la formation des sols. Leurs capacités à survivre dans des environnements extrêmes en fait des indicateurs de la qualité de l'air.

Les biopesticides à base de *Cladonia Pertontosa* , ont un effet positif sur la lutte contre le ravageur *Tribulum confusiom*. Ils peuvent aider à réduire la population de ces insectes nuisibles de manière naturelle et respectueuse de l'environnement. C'est une alternative intéressante aux pesticides chimiques.

**Mots clés:** lichens, symbiose, biopesticides, *Cladonia Pertontosa* , *Tribulum confusiom*

**Summary:**

Lichens are fascinating organisms that result from the symbiosis between a fungus and an alga. They play an important role in ecosystems providing food and contributing to soil formation. Their ability to survive in extreme environments makes them indicators of air quality.

Biopesticides based on *Cladonia Pertontosa* have a positive effect on the fight against the pest *Tribulum confusiom*. They can help reduce the population of these harmful insects in a natural and environmentally friendly way. It is an interesting alternative to chemical pesticides.

**Keywords:** lichens, symbiosis, biopesticides, *Cladonia Pertontosa*, *Tribulum confusiom*