



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou

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 : biotechnologie et valorisation des plantes

Thème

Etude de l'effet bio insecticide de la poudre lichénique de *Parmelia acetabulum* sur les charançons du riz (*Sitophilus oryzae* L., 1753)

Présenté par :

M^{lle} Messaoudene Sabrina.

M^{lle} Zermout Thiziri.

Présidente : M^{me} TALEB .K

Maitre de conférences classe A UMMTO.

Promotrice : M^{me} SAHMOUNE.F

Maitre de conférences classe B UMMTO.

Examineur : M^{er} MEDJBEUR.Dj

Maitre de conférences classe B UMMTO.

Promotion 2021/2022



Les remerciements

Avant tout ,nous remercions « ALLAH » le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force ,le courage , la patience ,la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles afin d'accomplir ce modeste travail.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre promotrice M^{me} SAHMOUNE SIDI-MANSOUR F .Pour nous avoir accepté de nous encadrer et nous a ouvert accès à son laboratoire afin de réaliser notre projet de fin d'étude.

Nous remercions aussi M^{er} Hoali qui nous a aussi aider par tous les moyens quel que soit le matériel qui nous manque ,des informations, et aussi des produits qui ne sont pas disponible dans notre laboratoire, sans oublier aussi M^{me} Ait Teyeb qui nous a ouvert les portes de son laboratoire.

Nous remercions sont adressés aux membres de jury pour avoir accepté d'examiner notre travail : M^{me} TALEB.K et M^{er} MEDJBEUR.Dj

Nous souhaiterons également remercier nos professeurs de la faculté des sciences biologiques et sciences agronomiques pendant les cinq années du notre parcours.

Enfin, a tous qui nous aider et encourager de près ou de loin dans la réalisation de ce projet.

« Soyons reconnaissants aux personnes qui nous donnent du bonheur; elles sont les charmants jardiniers par qui nos âmes sont fleuries »

Marcel Proust.



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A ma chère mère, tu représentes pour moi la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta tous fait pour moi maman pour me grandir, aucune dédicace ne serait assez pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance jusqu'à ce jour.

A mon cher père qui aurait bien voulu voir cet instant, et le soutien à mes côtés, que son âme repose en paix.

A mon future mari qui est toujours à mes côtés, qui me soutien tous le temps et me fait du courage pour continuer mon chemin, et ne me laisse pas se désespérer, que dieu le garde pour moi.

A mes chères tantes et oncle étaient pour moi comme des frères et sœurs.

A tous mes amis.

A tous ceux que j'aime et qui m'aiment

THIZIRI.



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour :

A celle qui m'a arrosé de tendresse et d'espoir, l'éducation, la source d'amour qui ma bénie par ses Perier.... Ma chère Maman.

A mon support dans ma vie et pour son soutien, son affection et la confiance qui il m'accordé ...Mon cher papa.

A mes deux frères Walid et Wassim.

A tous les membres de ma famille et toutes personnes qui porte le nom Messaoudene.

A tous mes amis qui m'ont toujours encouragé.

A tous qui m'aiment.

A tous ceux que j'aime.

SABRINA.

Sommaire

Partie I : synthèse bibliographique

Introduction.....1

Chapitre I : Généralités sur les lichens.

I.1 Définition2

I.2 Anatomie des lichens.....2

I.3 Les organes spéciaux du thalle lichénique.....5

I.3.1 Les organes portés par la face inférieure du thalle.....5

I.3.2 Les organes portés par la face supérieure du thalle.....6

I.4 La morphologie des lichens.....6

I.5 Les différents types de thalles.....6

I.6 La symbiose des lichens.....10

I.6.1 Définition.....10

I.6.2 Les constituants des lichens.....11

I.6.3 Les rapports algues champignons et nature de la symbiose lichénique.....12

I.7 La reproduction des lichens.....13

I.7.1 La multiplication végétative.....13

I.7.2 La reproduction sexuée.....14

Chapitre II : la Biochimie des lichens

II.1 : La biosynthèse des substances lichénique.....15

II.1.1 : Voie de l'acide mévalonique.....15

II.1.2 : Voie de l'acide shikimique.....	16
II.1.3 : Voie l'acétate polymalonate.....	16
II.2 : Localisation des substances lichénique.....	17
II.3 : Importance des substances lichénique.....	17

Chapitre III : Ecologie des lichens et usages

III.1.Ecologie des lichens.....	18
III.1.1.Facteursédaphiques ou substratiques.....	19
III.1.2.Facteurs climatiques.....	20
Autres facteur atmosphériques.....	20
III.1.3.Facteur biotiques.....	21
III.2 les usages des lichens.....	21
III.2.1. Usage Alimentaire.....	21
III.2.2. Usage industrielle.....	22
III.2.3.Utilisation en teinturerie.....	22
III.2.4 Usages médicinaux.....	22

Partie II : partie pratique

Chapitre IV : Matériels et méthodes

IV.1 Matériel animal.....	25
IV.1.1Les caractères généraux de la famille des Curculionidae.....	25
IV.1.2 Position systématique de <i>Sitophilus oryzae</i> (Linnaeus., 1753)(Coleoptera).....	25
IV.1.3Description morphologique des différents états de l'insecte.....	26

IV.1.4 Les dégâts causés par <i>S.oryzae L</i>	27
IV.2 Matériel végétal	
IV.2.1 Présentation de site de prélèvement.....	27
IV.2.2 Description de l'espèce récolte <i>parmelia acetabulum</i>	28
IV.2.3 La classification actuelle.....	30
IV.3 La méthodologie	
IV.3.1La récolte des lichens.....	30
IV.3.2La conservation des lichens au laboratoire.....	30
IV.3.3La préparation du matériel végétale.....	30
IV.3.4L'extraction des substances lichéniques.....	30
IV.3.5L'activité bio –insecticide de la poudre lichénique.....	31
IV.3.6La chromatographie sur couche mince.....	32
IV.3.7La micro cristallisation.....	34
IV-8Calcul du rendement.....	35
Chapitre V : Résultats et discussion	
V-1 Résultats de l'activité bio insecticides.....	36
V-2Résultats de la chromatographie sur couche mince.....	44
V-3Résultats de la micro cristallisation.....	46
V.4 Discussions.....	48
La conclusion.....	50

Les lichens sont une forme de vie unique qui résulte de la symbiose entre un champignon et une algue et/ou cyanobactérie (MITROVIC et al., 2011). Cette double nature ne se remarque pas à l'extérieur, très souvent le lichen ne présente aucune ressemblance avec ses partenaires constitutifs (KRISCHBAUM et WIRTH, 1997).

Les lichens sont l'organisme unique produisant les métabolites biologiquement actifs (JOEL et al.; 2005), leurs métabolites sont généralement divisés en deux : Métabolites primaire et métabolites secondaires, les métabolites primaire sont les protéines les lipides et les carbohydrates.

Les métabolites secondaires sont des molécules qui par exclusion, n'appartiennent pas au métabolites primaire appels aussi substance lichénique ou acide lichénique, sont des molécules très complexe insolubles dans l'eau et solubles dans les solvant organique, et aussi participent à la vie de relation de la plante (ou de leur organisme hôte) et ils ont des rôles très variés, il peuvent servir de défense (sécrétion amères au toxique pour les prédateurs, elle exercent plusieurs effet biologique antivirale, antibactérienne, antioxydant, anthelminthique et insecticides (vinyaka et al, 2009, tatjana et al 2011).

Des travaux ont été réalisés pour montrer l'effet antibiotique de certaine substance lichénique, notamment l'acide usnique contre certaines bactéries pathogènes de l'homme (chaba, 2012).

Les pesticides sont devenus un problème environnemental et sanitaire majeur. La lutte biologique en agriculture peut être une des solutions viables qui permettrait de répondre à la demande croissante en nourriture tout en diminuant l'usage des pesticides. C'est pour cela l'étude que nous avons menée a visé la valorisation des substances naturelles en tant que bio pesticides. Pour cela, nous nous sommes intéressés à l'utilisation des métabolites secondaires lichéniques extrait à partir d'un lichen *Parmelia acetabulum* qui est une espèce foliacée corticole sur un insecte ravageur du riz (*Sitophilus oryzae* L., 1753),

Ainsi notre travail est structuré comme suite :

- 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
- la seconde partie : matériels et méthodes
- la troisième partie : est consacrée aux résultats et discussion et conclusion.

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les lichens.

- **Définition des lichens :**

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 appelé mycobiote et une algue verte ou une cyanobactérie, autotrophes (chlorophylliens) appelés photobionte (Louis de Schreyer, 2009).

Les lichens sont dépourvus de tiges, feuilles et racine, et qui ne sont donc pas vascularisés (Van HALUWYN et LEROND, 1993).



Figure1 : photo d'un lichen cohabitant sur une branche (Klorane botanical fondation, 2018).

- **Anatomie des lichens :**

Il existe deux structures :

- Structure homéomère
- Structure hétéromère

- ✓ ***Structure homéomère :***

La répartition des cellules de photobionte est assez homogène dans l'épaisseur du thalle mais avec une densité importante près de deux phases. Cette structure caractérise souvent les thalles gélatineux.

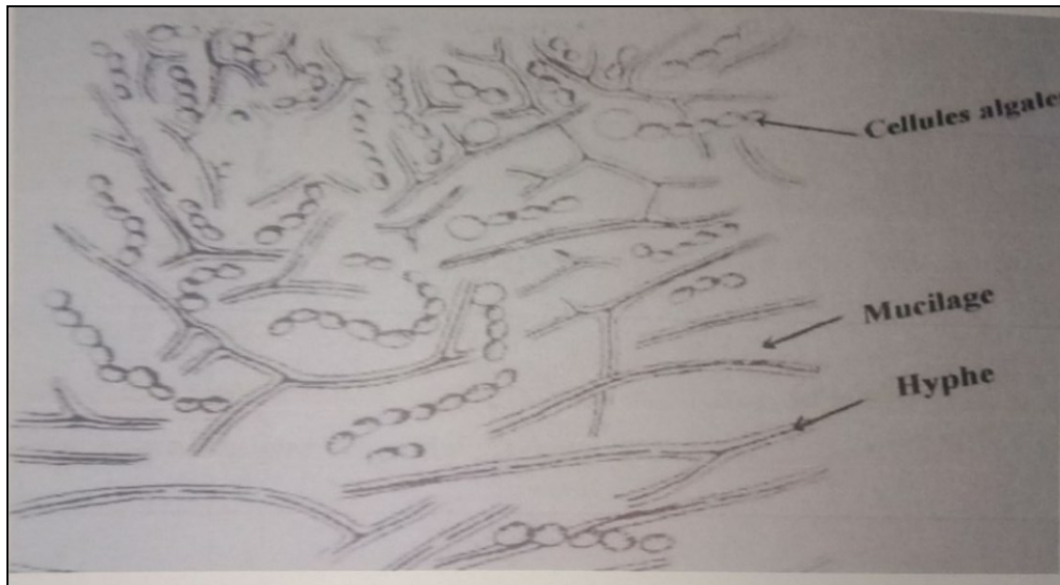


Figure2 : structure homéomère de collematenax (OZENDA et CLAUZADE, 1970)

✓ **Structure hétéromère :**

Elle est caractérisée par l'existence de plusieurs couches superposées bien visible sur une section transversale sauf dans la structure filamenteuses. La photosymbiote constitue une zone bien délimitée entre les couches du mycosymbiote (VAN HALUWYN et LEROND, 1993)

La transition entre structure homéomère et hétéromère est observable dans certains thalles gélatineux, exemple : *Leptogium*.

Outre ces structures de transition, on peut observer deux types de structures stratifiées

• **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 (OZENDA et CLAUZADE, 1970).

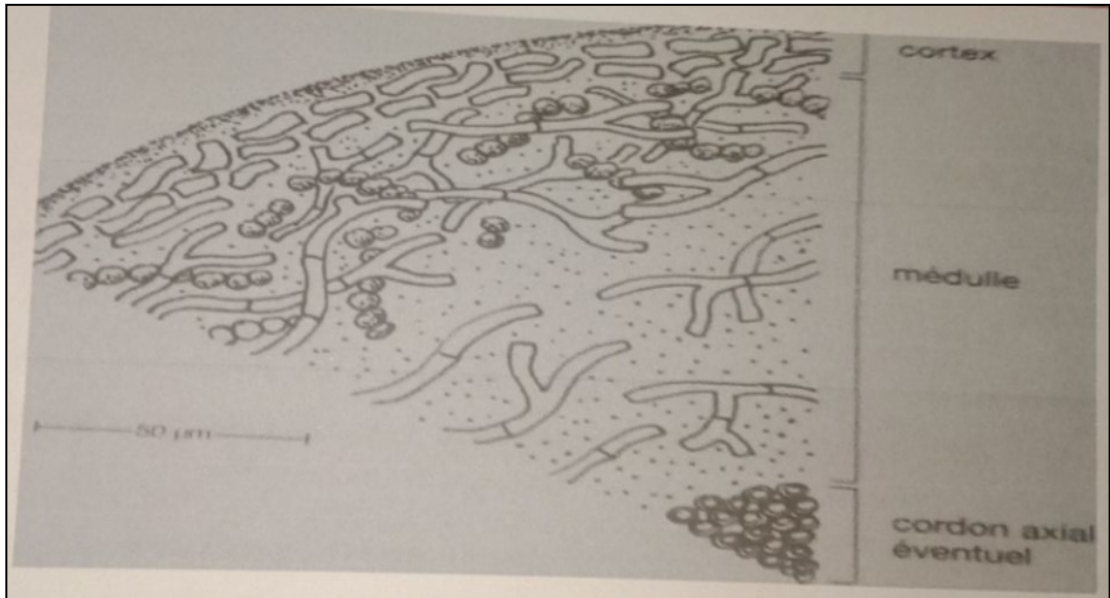


Figure3 : Structure hétéromère radiale coupe transversale de thalle (TIEVANT, 2001)

- **Structure stratifiée :**

Dans la plupart des thalles foliacés, chez de rares lichens fruticuleux (*Evernia prunastri*) qu'on observe cette structure (OZANDA et CLAUSADE, 1970).

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.

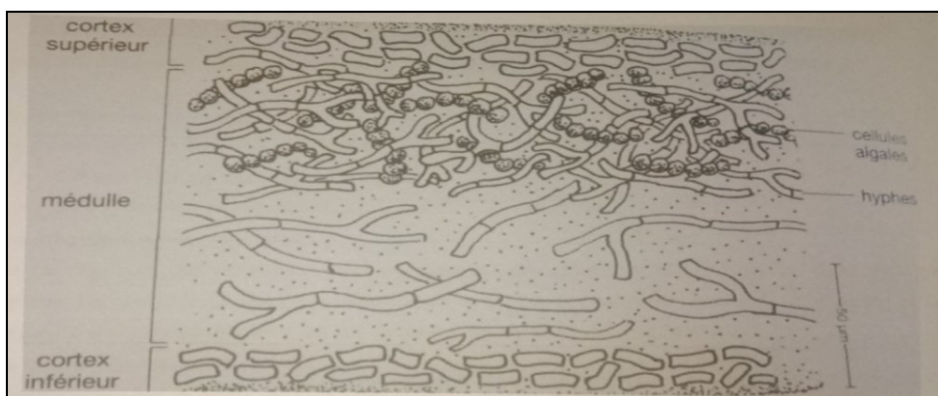


Figure 4 : structure hétéromère stratifié de *Lobaria pulmonaria* (TIEVANT, 2001)

I.3 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.3.1 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 (senever.1990).
- **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 incurves 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* (génèves, 1990).

I.3.2 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 *Usnio Florid* (OZENDA et CLAUZADE, 1970).
- **Nodules** : Appelés 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 *Peltigera aphthosea* (OZENDA et CLAUZADE, 1970).

I.4 La morphologie des lichens :

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

I.5 Les Différents types de thalles :

- **Thalles crustacés** :

Non séparables du substrat, du moins sous forme de fragments importants, car très adhérents à celui-ci et même inclus dans ce dernier ; ils présentent deux types bien distincts, quoique reliés par des formes de transition.

Thalles crustacés lobés au par tour : Quand ils sont très typiques par exemple chez *Fulgensia fulgens*, ils ont l'aspect de petits thalles foliacés avec lesquels ils forment parfois transition.

Thalles crustacés non lobés au par tour : Beaucoup d'entre eux sont entièrement ou presque entièrement enfoncés dans le thalle. Souvent mal délimités ou peu distincts. Quand leurs couleurs offrent peu de contraste avec celles du substrat, ces thalles sont principalement

hypophléodes ou endolithiques. Les autres, de même que les thalles lobés au partout, s'étalent presque entièrement à la surface du substrat et, quoique très adhérents à celui-ci, ne le pénètrent que très superficiellement ce sont des thalles épiphléo des épilithiques et épigés (G.CLAUZADE et C.ROUX, 1987).

- ***Thalles fruticuleux*** :
- Plus au moins ramifiées : exemple *Alectoria ochroleuca* ou *Usnea florida*.
- Non ramifiées ou quelques ramification : exemple *Thamnolia vermiculairs*.
- Tiges ramifiées, plus ou moins plates avec section anguleuse, exemple : *Letharia vulpina*.



Figure 5 : Lichen fruticuleux *Evernia punastri*, Emile Littré (1872-1877).

- ***Thalles foliacés*** :

Ils forment des lames le plus souvent lobées, facilement séparables de l'écorce, avec la face inférieure le plus souvent garnie de fausses radicelles (rhizines) jouant le rôle de moyen de fixation.



Figure 6 : Thalle foliacé *Xanthoria Fallax*(43-Léotoing).

- ***Thalles squamuleux :***

Ce sont des thalles formés par des sortes d'écailles plus ou moins rapprochées, ou même imbriquées, à bord n'adhérant par au support (OZENDA, 1990). Ces thalles sont intermédiaires entre les thalles crustacés et les thalles foliacés (figure 7).



Figure 7 : Thalle Squamuleux *Psora decipiens*

- ***Thalles complexes :***

- Particuliers aux *clodina* et *Stereo caulon*, ils sont formés de deux parties bien distinctes :
- Thalle primaire, crustacé, squamuleux ou plus rarement foliacé, plus ou moins étalé sur le substrat.
- Thalle secondaire, fruticuleux, formé d'éléments se développant plus au moins perpendiculairement au substrat, ceux-ci proviennent de la prolifération de la base de l'apothécie.



Figure 8 : image d'un Thalle complexe

- ***Thalles gélatineux :***

Chez beaucoup de lichens à cyanophycées, le thalle est noir ou noirâtre (parfois aussi bleuâtre à cause de la pruine) (figure 9). Le plus souvent rigide et fragile à l'état sec, il gonfle et devient pulpeux sous l'action de l'eau un peu semblable à la gélatine.



Figure 9 : une image d'un Thalle gélatineux *Lathagrium oriforme*

- ***Thalle lépreux :***

Le thalle est constitué d'un ensemble de granules formés chacune de filaments mycéliens associés à quelques pleurocoques. Exemple : *Lepraria incana*.



Figure 10 : image d'un Thalle lépreux *psilo lechialucida*

I.6 La symbiose des lichens :

I.6.1 Définition :

Un lichen est l'association d'un champignon et d'un symbiote doué de photosynthèse qui résulte en un organisme végétatif stable ayant une structure spécifique :

Grâce à des petits filaments jouant le rôle de racine les rhizines, le champignon fixe le lichen sur la substance.

En outre, par sa biomasse importante, il joue le rôle de protection pour la photosymbiose. Hétérotrophe, le champignon apporte au photosymbiote eau, sels minéraux et certaines vitamines comme la vitamine c.

L'association champignon – algue présente une grande originalité, le champignon fabrique des substances lichéniques (ou acides lichéniques) très nombreuses, ce qui n'est pas avec le champignon seul.

Ces substances apportent aux lichens diverses propriétés et spécifiques :

- Fixation sur le substrat.
- Maintien de l'équilibre hydrique.
- Régulation de la photosynthèse.

- La symbiose lichénique limite donc par un partenariat entre deux ou trois constituants et le thalle peut être considérée comme un véritable écosystème complexe.
- La symbiose lichénique est créative de biodiversité systématique, morphologique et biochimique.

I.6.2 Les constituants des lichens :

Les lichens ne constituant pas un groupe systématique comme les autres, mais un groupe biologique réunissant des champignons et des algues vivant en symbiose, et aussi c'est une association d'un élément fongique et d'un élément algale. Il s'agit donc d'un binôme qui doit d'abord être analysé du point de vue des photosymbiotes (algues), et mycosymbiotes (champignon).

➤ Les champignons constituants des lichens (Mycosymbiotes) :

Le champignon est dans plupart de ces cas « L'associé externe). C'est lui qui va offrir en particulier la possibilité de reproduction sexuée et qui joue un rôle prépondérant.

- Les ascomycotinu : Ce sont les plus importants pour l'association lichenique puisqu'ils représentent 99% des champignons lichénisés.
- Les Basidiomycotina : En comparaison avec les Ascomycatina la lichenisation est peu fréquente dans les autres groupes de champignon, chez les Bascidiomycatina, elle apparait confinée aux hyménomycètes.
- Le Deuteromycota : Ce sont des champignons lichénisés n'ayant jamais montré ni asque ni basides et que l'on doit considérer comme des champignons imparfaits.
- Les autres constituants fongiques : Les *mastigamycota* ne comptent qu'une seule espèce lichénisés qui associe avec une Nostocacée pour constituer géosiphon pyriforme deux *myscomycota* ont été observés en association avec trois espèces de *chlorella*, et certains actisiamycètes peuvent en symbiose avec une algue constituer une association ressemblant à un lichen.

➤ **Les algues constituantes des lichens :**

- Les algues des lichens est « l'associé interne » (traduction anglais) « inhabitant » de la définition officielle des lichens, celui qui réalise les synthèses organiques.
- Les photosymbiotes ont été moins étudiés que les mycosymbiotes.
- Les photosymbiotes au stade lichénisé sont souvent modifiés.
- La majorité des algues, contractant une alliance symbiotique, sont des chlorophytes (ou Algues vertes), les chlorococales, sont les mieux représentés.
- Certains photosymbiotes peuvent vivre non lichénisés dans la nature (VAN HALUWYN et LEROND, 1993).

I.6.3 Les rapports algues – champignons et nature de la symbiose lichénique :

Un lichen résulte de l'association symbiotique entre une algue chlorophyllienne microscopique et un champignon, ce dernier représentant plus de 90% du lichen.

La symbiose signifie qu'il y'a des échanges bénéfiques au niveau nutritionnel entre l'algue et le champignon.

Les interactions peuvent être classées en fonction du degré d'association des organismes impliqués, et de la durée de ces interactions et de leurs caractères bénéfiques.

- **Rapport cytologique :**

Dans le thalle lichénique c'est seulement dans la couche dite gonidiale que les cellules algales et les hyphes voisinent, allant depuis un simple contact jusqu'à la pénétration des suçoirs mycéliens dits hautoiriums à l'intérieur même de l'algue (SOUCHON, 1971).

La microscopie électronique permet de visualiser les relations morphologiques réalisés par des suçoirs microscopiques appelés haustoria. Ces dernières sont des excroissances de l'hyphes entrant en contact avec la cellule algale grâce à des lectines qui sont des glycoprotéines d'origine fongique (VAN HALUWYN, M.LEROND, 1993).

- **Rapport métabolique :**

Le rapport d'ordre trophique entre le thalle lichénique et le substrat, on entre les deux protagonistes, sont complexes et varient dans le temps et l'espace, ainsi que selon les stations, (GORENFLOT et GUEREN, 1989).

I.7 La reproduction des lichens :

La reproduction des lichens se fait par deux manières :

- Multiplication végétative du lichen.
- Reproduction sexuée du champignon.

I.7.1 La Multiplication végétative :

Elle se fait soit par émission de soredies ou d'isidies ou par dissémination de fragment du complexe lichénique et dans chaque fragment l'algue et le champignon sont présents, ce qui permet une reprise de croissance et la formation d'un nouveau thalle, c'est un processus mettant en œuvre les deux symbiotes à la fois.

- **Fragmentation du thalle :**

Les processus les plus fréquents, sont ceux qui mettent en jeu des corpuscules bien différenciés et constitués des deux symbiotes.

Ces corpuscules peuvent être structurés ou non. Lorsqu'ils sont 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, phyllidies) 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 HALUWYN, M.LEROND, 1993).

- **Isidies :**

C'est une sorte de bourgeonnement du thalle (OZENDA, 2000).

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 du thalle ou sur le bord thallin des apothécies le cas de *Parmelia saxatilis* (VAN HALUWYN, M.LEROND, 1993).

- **Soralies :**

Ce sont également des excroissances thallines, mais contrairement aux isidies, elles ne sont jamais cortiquées et ne présentent pas de structure différenciées : Ce sont de petits coussinets constitués d'algues entrelacées par des hyphes fongiques (VAN HALUWYN, M.LEROND, 1993).

Les soraliers peuvent donner naissance à des isidies. (TIEVANT, 2001).

I.7.2 Reproduction sexuée :

C'est un processus de reproduction qui met en œuvre le mycosymbiote. Le mode habituel de reproduction sexuée sera la formation d'ascocarpes renfermant les asques, cellules fertiles produisant les ascospores chez les ascomycètes. Outre ces fructifications, un certain nombre d'espèces produisent également des pycnides (ou conidamnges) libèrent des pycnidiospores ou pycnoconidies.

- **Apothécies :**

L'Apothécie est la fructification des discomycètes, le plus souvent les apothécies sont sessiles mais peuvent être plus ou moins enfouies dans le thalle (solorina, aspicilia). Parfois même enfoncées dans des verrues fructifères (VAN HALUWYN, M.LEROND, 1993).

- **Périthèces :**

Ce terme tire son origine de deux mots grecs : Péri, autour et thêkê : étui. Cette fructification caractéristique des pyrénomycètes se présente sous forme de petite bouteille avec une partie renflée, le nucléus, tapissé par l'hyménium et une partie supérieure étroite ou col s'ouvrant par un ostiole (VAN HALUWYN, M.LEROND, 1993).

Chapitre II : La biochimie des lichens

II.1 : La biosynthèse des substances lichéniques (métabolites secondaires)

Les métabolites secondaires lichéniques peuvent être obtenus via trois voies de biogenèse proposées dans la littérature : la majorité de ces composés est dérivée de la voie de l'acétate polymalonate ou polycétide synthase ; les autres métabolites secondaires sont issus des voies de l'acide shikimique et de l'acide mévalonique (STOCKER-WÖRGÖTTER et al., 2013) (figure 11).

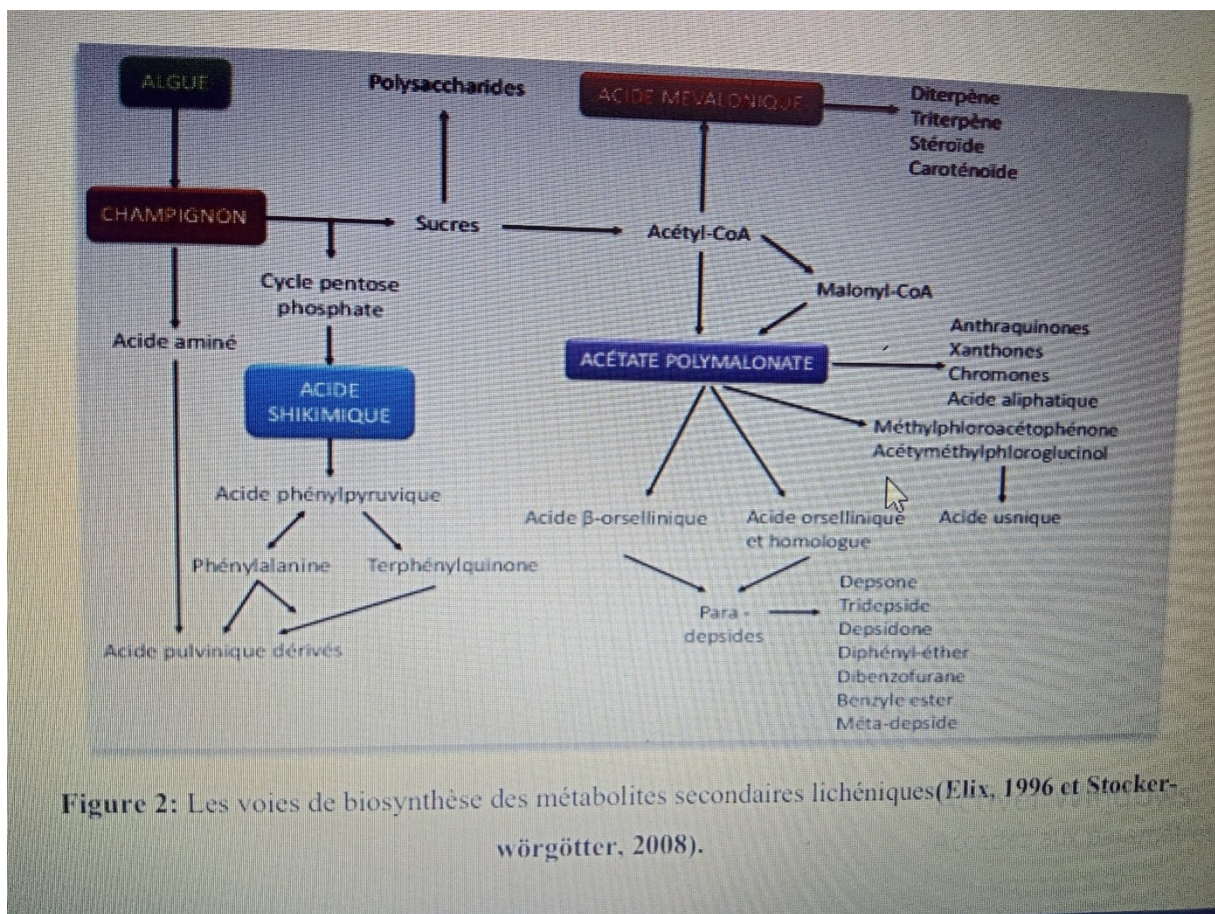


Figure 2: Les voies de biosynthèse des métabolites secondaires lichéniques (Elix, 1996 et Stocker-wörgötter, 2008).

Figure 11 : Les voies de biosynthèse des métabolites secondaires lichéniques (ELIX, 1996 et STOCKER WÖRGÖTTER, 2008).

II.1.1 Voie de l'acide mévalonique :

Elle est à l'origine des tri terpènes et des stéroïdes ; elle utilise comme précurseur l'acétyl-coA

II.1.2 La voie de l'acide shikimique :

Cette voie permet la synthèse d'acides aminés aromatiques (phénylalanine, tyrosine, tryptophane) qui, chez les plantes, sont les précurseurs des flavonoïdes (figure 12), des coumarines (figure 13), ou encore des alcaloïdes. La phénylalanine serait le précurseur, via la formation d'acide polyporique, de l'acide pulvinique –di- lactone

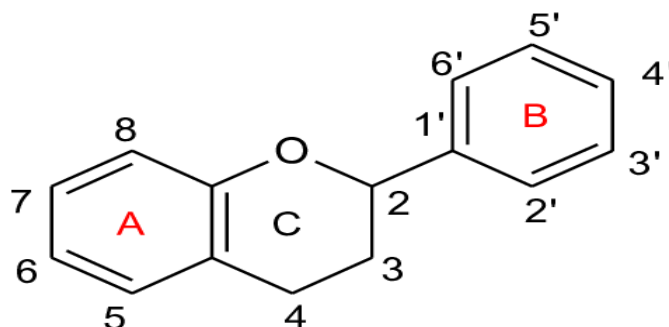


Figure12 : Structure de base des flavonoïdes.

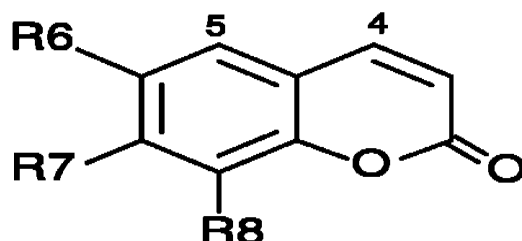


Figure13 : structure de base des coumarines.

II.1.3 La voie des acétates polymalonates :

Plusieurs unités d'acétates se condensent pour conduire à des dérivés cétonique qui se cyclisent ensuite, pour former enfin des quinones (dérivés 1-8 dihydroxyanthracénique), naphtodianthrones, et orcinoles qui donnent des depsidones.

II.2 La localisation des substances lichéniques :

Certains composés tel que le dibenzofurane (acide usnique), depsides, depsidones existant dans les lichens se retrouvent sous forme de cristaux sur la surface externe des hyphes dans le cortex supérieur ou dans la médulle de thalle (BOUSTIE, 2011).

II.3 Importance des substances lichéniques :

Le lichen tire profit des caractéristiques suivantes des substances lichéniques : hydrophobie, propriétés chélatantes, absorption et conversion des radiations lumineuses, régulation de l'activité photosynthétique de l'algue,...

-Hydrophobie : les substances lichéniques contribuant au maintien de l'équilibre hydrique du thalle en limitant l'évaporation de l'eau de la surface de thalle et en contrôlent les voies de transfert à l'intérieur du thalle.

-Propriétés chélatantes : peuvent assurer une certaine protection par chélation des métaux lourds essentiellement présents dans le milieu.

-Conversion des radiations lumineuses : par la présence d'atranorine dans le cortex supérieur, les longueurs d'ondes inutilisables par le photosymbiote sont modifiées et deviennent alors utilisables.

-Régularisation de l'activité photosynthétique : les substances lichéniques régulent l'activité photosynthétique de l'algue selon divers mécanismes encore mal élucidés. Elles permettent ainsi au mycosymbiote de maintenir la population algale dans une couche d'épaisseur uniforme tout au long de la vie d'un thalle.

Chapitre III : Ecologie des lichens

III.1. 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).

III.1.1 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*.

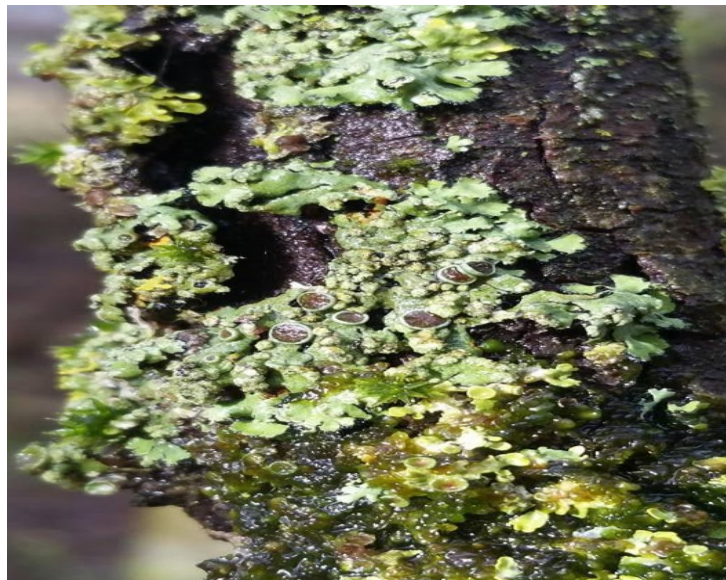


Figure 14 : *Physconia distorta* photos Gilles Weiskricher (Anab, 2018)

→**Espèces saxicoles** : qui se développent sur des surfaces rocheuses et les toitures, exemple : *Rhizocarpon geographicum*(figure 15).



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 strobilina* (figure 16).



Figure 16: *Lecanora strobilina* (spreng) Kieff., 1895

→ **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.

III.1.2 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).

III.1.3 : 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).

III.2 Usages des lichens :

Les lichens ont été utilisés dès l'antiquité comme plantes médicinales et pour une foule d'usages alimentaires ou artisanaux. Ils ont été employés comme nourriture pour l'homme ou le bétail, mais seulement dans les régions très pauvres ou bien en période de guerre ; et comme source d'antibiotiques ou comme indicateurs des conditions de milieu naturel (OZENDA et CLAUZADE, 1970).

III.2.1 usages alimentaires :

Dans l'alimentation humaine, seule *Cetraria islandica*, 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 par les trappeurs sous le nom de "tripes de roches" et l'une d'elles est utilisée au Japon. Enfin, *Lecanora sculenta* a 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. Les mêmes lichens et notamment

Cetraria islandica ont été utilisés dans les pays nordiques à la nourriture des porcs, des chevaux et des vaches (OZENDA et CLAUZADE, 1970). Selon Agnesflour (2004), les lichens tel que *Cetraria*, *Cladonia* sont utilisés comme fourrage des rennes en Laponie. *Lecanora sculenta* est consommé en Iran par les paysans qui en font une sorte de pain.

III.2.2 usages industriels :

L'extraction industrielle des lichens en produits pour la parfumerie se fait surtout à partir de deux lichens fruticuleux récoltés sur les arbres : *Evernia prunastri* (la mousse du chêne) et *Pseudo vernia furfuracea* (mousse des arbres). On en récolte chaque année entre 8 000 et 9 000 tonnes pour les parfums à odeur de "Chypre", de "cuir de Russie" (George, 1999).

III.2.3 Utilisation en Teinturerie :

Il s'agit surtout de matières colorantes. Ce sont des substances du groupe des depsides qu'on l'appelle les orseilles. Elles sont colorables en rouge par les hypochlorites et après diverses transformations donnent des couleurs pourpre ou bleu. On les retire surtout des *Roccella* qui se développent sur les rochers littoraux. Dans les pays nordiques, les lichens font l'objet d'une exploitation artisanale. Différents types de lichens peuvent donner des substances mucilagineuses qui sont obtenus par une extraction à l'eau chaude et par hydrolyse partielle, qui ont été utilisées comme succédanés de gomme arabique et de l'alcool qui est le résultat d'une hydrolyse de la lichénine (OZENDA, 2000).

III.2.4 Usages Médicinaux :

Le principal intérêt des lichens en médecine est la possibilité d'extraire des antibiotiques. L'acide usnique des *Usnées* semble actif contre une vingtaine de bactéries dont le Colibacille et divers agents de la tuberculose (OZENDA, 2000). A partir de *Ramalina reticulata*, on peut obtenir à l'état cristallisé, une autre substance antibactérienne, elle est active contre divers Pneumocoques, Streptocoques et Staphylocoques, mais toujours à des doses beaucoup plus fortes que celles des antibiotiques habituels. D'autre part, *Cetraria islandica* est encore utilisé en pharmacie dans la fabrication des pâtes pectorales en raison des propriétés émoullientes de la lichénine. *Letharia vulpina* est toxique et a été utilisé pour fabriquer des appâts empoisonnés contre les loups et les Renards (OZENDA, 2000). En 1989, des chercheurs ont trouvé des propriétés anti tumorales et inhibitrices de la réplication du virus du SIDA, preuve

de l'intérêt médical pour les molécules issues des plantes. Enfin des substances lichéniques sont encore aujourd'hui utilisées en homéopathie pour la fabrication de sirops et de pastilles (Le Gac et al. 2006).

Chapitre IV : Matériels et méthodes

IV.1. Matériel animal.

Le charançon de riz (*Sitophilus oryzae* L., 1753)

IV.1.1 Caractères généraux de la famille des curculionidae.

les Curculionidae sont une famille d'insecte phytophage appartenant à l'ordre des coléoptère cette famille comprend certaines espèces des charançon (est composée d'insectes adultes mesurant de 1.5 à 20 mm de long et où la tête est prolongée par un museau (à ne pas confondre avec un rostre les pièces buccales sont bien de type broyeur, le rostre est un type suceur) les antennes sont articulées à un angle droit avec un scape très long, les larves sont blanchâtres et de forme généralement incurvée (Lepesme, 1944)

Cette famille a été étudiée par Hoffman (1954), elle compte environ 60.000 espèces : elle est divisée en 9 sous-familles. C'est un groupe très hétérogène, caractérisé par une systématique interne très complexe (Pailin, 1988).

IV.1.2-Position systématique de *Sitophilus oryzae* (Linnaeus, 1753) (Coleoptera).

Selon (Lepesme, 1944) (*Sitophilus oryzae* L., 1753)

Règne : Animalia

Embranchement : Arthropoda.

Sous-embanchement : Hexapoda

CLASSE : Insecta

Ordre : Coleoptera

Sous-ordre : Heterogastri

Famille : Curculionidae

Sous-famille : Rhynchophorinae

Genre : *Sitophilus*

Espèce : *sitophilus oryzae* L., 1753

Nom commun : Charançon du riz ou calandre du riz.

IV.1.3 Le bio cycle du charançon du riz (*Sitophilus oryzae*, 1753).

Œuf : L'œuf est ovale ou piriforme, sa couleur est d'un blanc opaque et brillant .Il mesure 0,6 à 0,7 mm de longueur et 0,2 à 0,3mm de largeur.

Larve : La larve est blanche, globuleuses et se caractérisé par sa forme ramassée .Au terme de son développement, elle mesure 2,5 a3 mm de long (Appert, 1982).

Nymphe : Lanympe de forme cylindrique, mesure 3,75 à 4 mm de longue, sa couleur passe du blanc au brun à mesure qu'elle évolue. Elle subit la mélanisation et la sclérotinisation de la cuticule (lepesme, 1944) (figure 17).

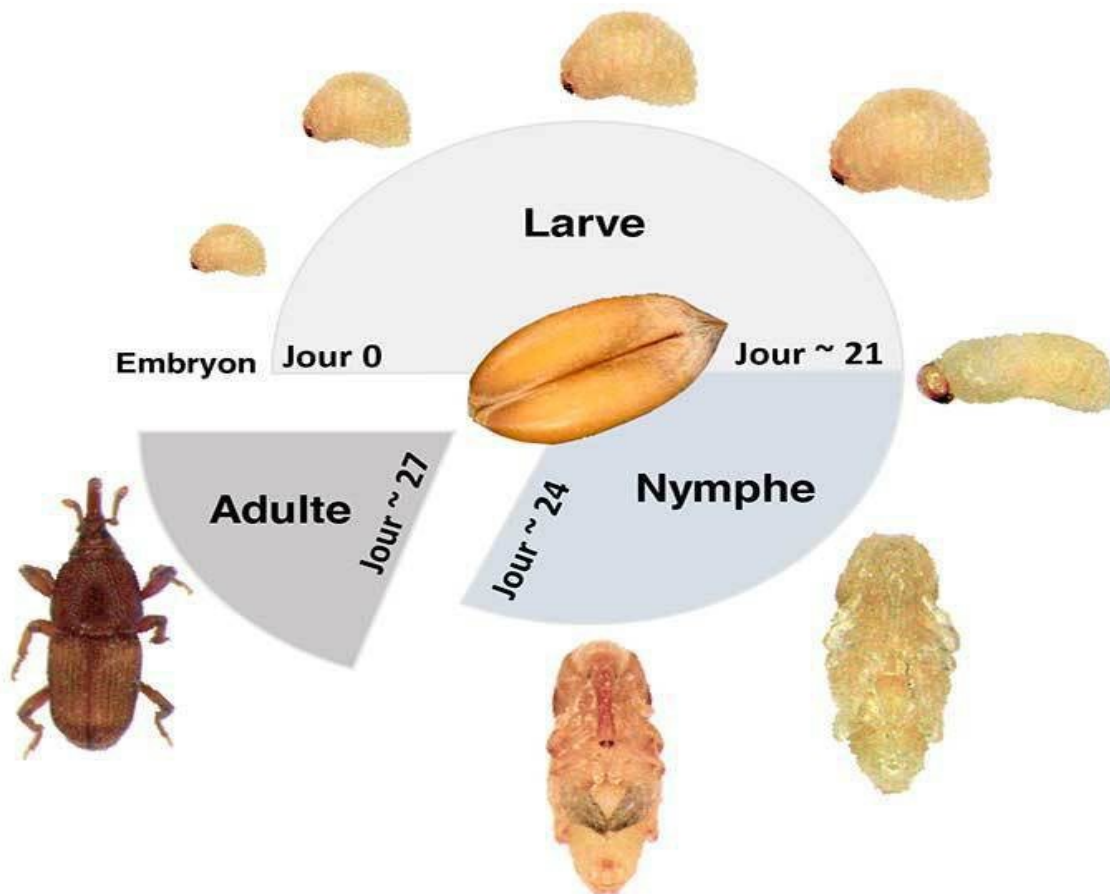


Figure 17 : les différents stades de développement de *Sitophilus oryzae* L.

IV.1.4 Les dégâts causés par *S.oryzae* L.

S.oryzae est une espèce de coléoptère extrêmement destructrice (DERBALAH et al. , 2012) qui attaque différents types de produits stockés dans le monde ,comme le blé ,le maïs ,l'orge, le sorgho, le seigle, l'avoine, le riz ,le millet ,les graines de coton ,de vesce, les haricots ,les noix, la farine. Les larves nourrissent et terminent leur développement dans la partie interne des graines.

Les adultes de *S.oryzae* colonisent rapidement les produits stockés, car ils sont capables de voler (HILL, 2002). Les dommages sont attribués à la perte de la valeur nutritionnelles, esthétique et industrielle, diminution du pouvoir germinatif des semences en se nourrissant d'embryons de graines. (KERBEL S, 2020)

IV.2 Le MATERIEL VÉGÉTAL :

IV.2.1 présentation de site de prélèvement.

Géo localisation de la forêt de Thala - Guilef

La récolte de l'espèce lichénique *Parmelia acetabulum* a été effectuée au mois de mai 2022 dans la forêt de **Thala Guilef** à 1000 m d'altitude. Ce site se situe à 38 km au sud-ouest de Tizi Ouzou, dans la partie Nord occidentale du massif montagneux du **Parc National du Djurdjura**.

Elle est délimitée ;

Au nord : Par la crête de tazreout-tamellalt à 1708 m d'altitude.

Au sud : Par Djbel Haizer ou le pont culminant est celui nommé la dent du lion à 2130m d'altitude.

A l'Est : Une ligne de crête débutante au tachgagalt à 2147m, passant par le pic Long à 2120 m.

A l'ouest : Les villages d Ait-Ali et Beni- Kofi.



Figure 18 : Site de récolte de *Parmelia acetabulum* (photo original Mai 2022).

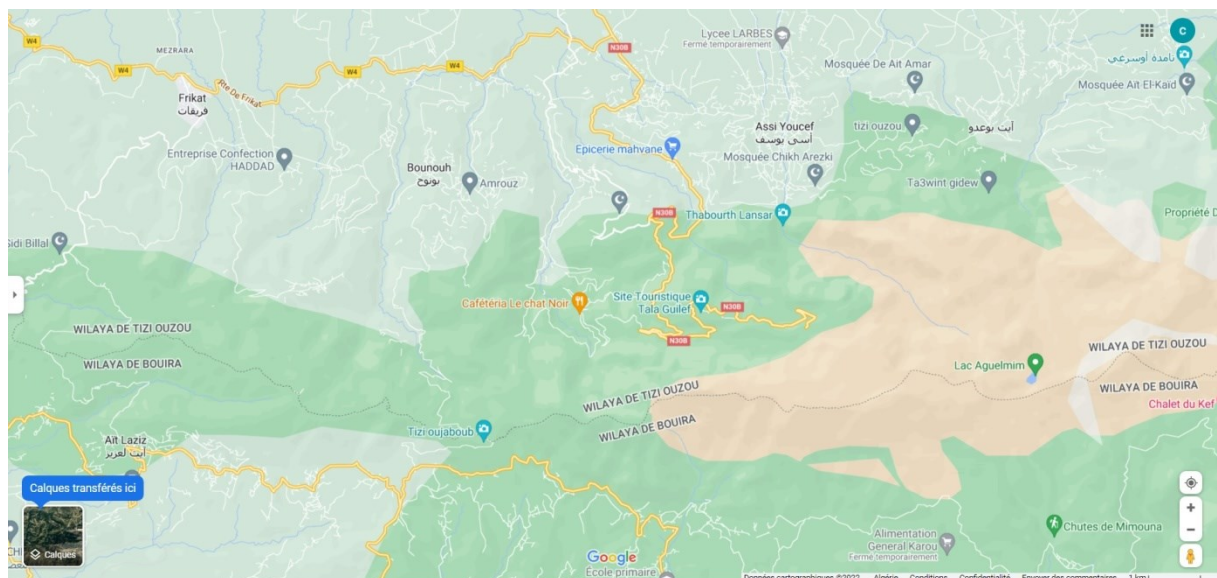


Figure19 : Localisation de la forêt de Thala Guilef source (Google Maps 2022).

IV.2.2 Description de l'espèce récoltée *Parmelia acetabulum* :

Appartenant à une espèce de champignon de la famille des parmeliaceae, c'est un lichen foliacé vert foncé arrive jusqu'à 15 cm, sans soralies ni isidies à lobes larges (plus de 4 mm) avec des petites feuille lobées, on peut observer de nombreuse apothécies (disque brun) pouvant atteindre une grande taille 0,5 à 2 cm de diamètre .La face inférieure est brun pale et présent des rhizines, (figure 20).

Le nom commun est : La parmélie en calice.



Figure20 : *Parmelia acetabulum* (originale, 2022).

Paramètres écologiques :

Parmelia acetabulum a des préférences de substrat pour sa croissance, nous la rencontrons :

- Sur écorce surtout de feuilles corticole, et surtout sur les troncs.
- Rarement lignicole ou sur rochers calcifuge.
- Sur étage bioclimatiques méso-méditerranéen à l'étage montagnard.

L'indice de luminosité de cette espèce est de 7.c'est un lichen semi-héliophile, souvent en plein lumière mais aussi à l'ombre.

L'humidité est de 3.c'est une espèce supportant les stations à faible précipitations, mais également présente en zone humide.

La valeur du pH de l'écorce est de 7.

La capacité nutritive de l'écorce est de 5, écorce minéralisée riche en substance nutritives.

La toxitolerance vis-à-vis des polluants est de 6. (Kirshbum et Wirth, 1997).

Réactions colorées : cortex K⁺ jaune puis brun, C⁻, KC⁻, P⁻ ; médulle K⁺ jaune puis rouge C⁻, KC⁺ rouge sang, P⁺ jaune puis lentement orange .

IV.2.3 Classification actuelle :

Règne : Fungi

Division : Ascomycota

Embranchement : Ascomycota

Sous-embranchement : Pezizomycotina

Classe : Lecanoromycètes

Sous classe : Lecanoromycetidae

Ordre : Lecanorales

Famille : Parmeliaceae

Genre : *Parmelia*

Espèce : *P. acetabulum*

IV.3 La méthodologie :

IV.3.1 La récolte de lichen :

L'espèce choisie *Parmelia acetabulum* a été récolté dans un site situé à 1000 m d'altitude, sur le chêne zeen.

IV.3.2 La conservation des lichens au laboratoire.

L'espèce récoltée a été conservée à une température ambiante afin de la sécher.

IV.3.3 La préparation du matériel végétal.

L'espèce lichénique récolté est séchée à l'air ambiant pendant 72 heures et réduite en poudre à l'aide d'un mortier pour augmenter la surface de contact avec le solvant.

IV.3.4 L'extraction des substances lichéniques.

Pour l'extraction on a utilisé la technique de la macération qui est un procédé qui consiste à laisser séjourner un solide dans un liquide (dans un récipient fermé)pour en extraire les composés solubles (extraction solide liquide) et agiter le mélange au cours de l'extraction (pour garantir une homogénéisation) peut aussi augmenter la vitesse de l'extraction. La macération se fait à température ambiante pour éviter la dégradation des métabolites

thermolabiles.

0.3g de poudre lichénique sont macérés dans un tube, en présence de 10 ml d'acétone, (figure21).



Figure21 :L'obtention d'un extrait lichénique avec de l'acétone

Ensuite nous avons fait une autre macération cette fois ci nous avons pris 0.3g de la poudre lichénique avec 10ml d'hexane.

IV.3.5 Activité bio insecticide de la poudre lichénique :

Nous avons utilisé la poudre lichénique *parmelia acetabulum* sur le ravageur du riz c'est les charançons pour évaluer l'activité bio insecticide dans les conditions de laboratoire.

Nous avons introduits 50g du riz dans chaque boite en plastique contenant préalablement des adultes de charançons du riz (*Sitophilus oryzae* L.), nous avons mis 20 individus dans chaque boites, et nous avons ajouté des quantités différentes de la poudre de *parmelia acetabulum* : 6g ; 8g ; 10g ; 12g ; 14g ;(figure 22).

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



Figure 22 : photo original des boites contenant la poudre lichéniques à différentes dose, le riz et les insectes.

IV.3.5 La chromatographie sur couche mince CCM.

Description de la technique :

La chromatographie sur couche mince est une technique dont la phase mobile est liquide, aussi c'est une méthode physique de séparation de mélanges en leurs constituant, elle est basée sur les différents d'affinité des substances à l'égard de deux phases l'une stationnaire ou fixe l'autre mobile, nommée éluant.

L'analyse chromatographique nous permet de donner le profil chimique de *parmelia acetabulum*. Deux systèmes de solvant ont été choisis :

-Pour la 1^{er} 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).

Sur la plaque de chromatographie nous avons tracé un trait de départ et sur ce trait nous avons mis cinq gouttes pour chaque extrait lichénique (acétone et l'autre pour hexane).



Figure 23 : la chromatographie réalisée au laboratoire (photo originale, juin 2022).

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_2SO_4 ».

La plaque est introduite dans une étuve à $100C^{\circ}$ 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 de centre de dépôt initial jusqu'au centre du spot de la substance

Le rapport frontal **RF** est calculé par l'équation :

Rapport frontal=la distance parcourue par la substance/la distance parcourue par le solvant

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.

IV.3.5 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 lichéniques 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'autre travaux réaliser au pare avant et ça nous a aidé d'identifier de quel substance s'agit-il.

IV.3.8 Calcul du rendement :

Le rendement est calculé par la formule suivante : $R = \frac{\text{Le poids final}}{\text{le poids initial}} * 100$

Et il est calculé pour chaque dose.

Le poids final est obtenu en ajoutant des quantités successives de l'acétone jusqu'à ce que notre poudre devienne très claire, nous l'avons laissé sécher pour s'évaporer le reste de l'acétone et nous l'avons pesé, le poids obtenu c'est le poids final.

Chapitre V : Résultats et discussion

V.1 Résultats de l'activité bio-insecticide de la poudre lichénique de *Parmelia acetabulum* :

Les résultats obtenus après la mise en contact des insectes (*Sitophilus oryzae L.*), avec la poudre lichénique de *Parmelia acetabulum* après différentes heures d'exposition allant du 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	0	0	1	3	1	2	0

Tableau2 : 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%	5%	15%	5%	10%	0%

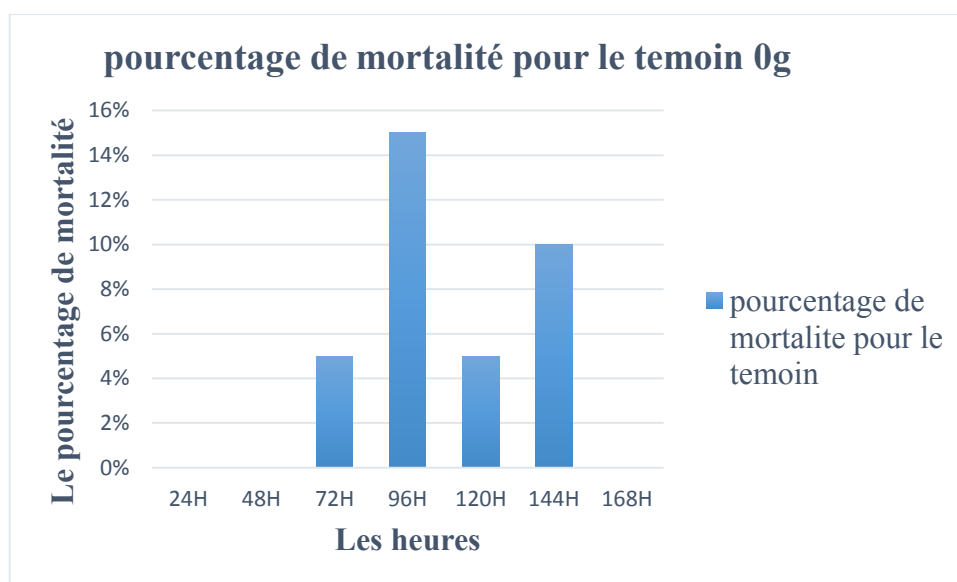


Figure24 : le taux de mortalité en % en fonction du temps pour le témoin 0g.

La figure24 représente un histogramme du taux de mortalité en pourcentage (%) en fonction du temps (heures) pour le témoin (0g).

Nous avons constatées que le taux de mortalité est nulle avant les 48h, puis elle augmente légèrement au bout des 72h jusqu'à 144h, nous avons que 7 individus qui sont mort les autres rester vivant, et se reproduisent.

Tableau3 : les résultats obtenus pour la dose 6g .

heures	24H	48H	72H	96H	120H	144H	168H
Nombre de mortalité	0	0	3	3	5	3	6

Tableau4 : le taux de mortalité en % pour la dose 6g.

Heures	24H	48H	72H	96H	120H	144H	168H
% de mortalité pour la dose 6g	0%	0%	15%	15%	25%	15%	30%

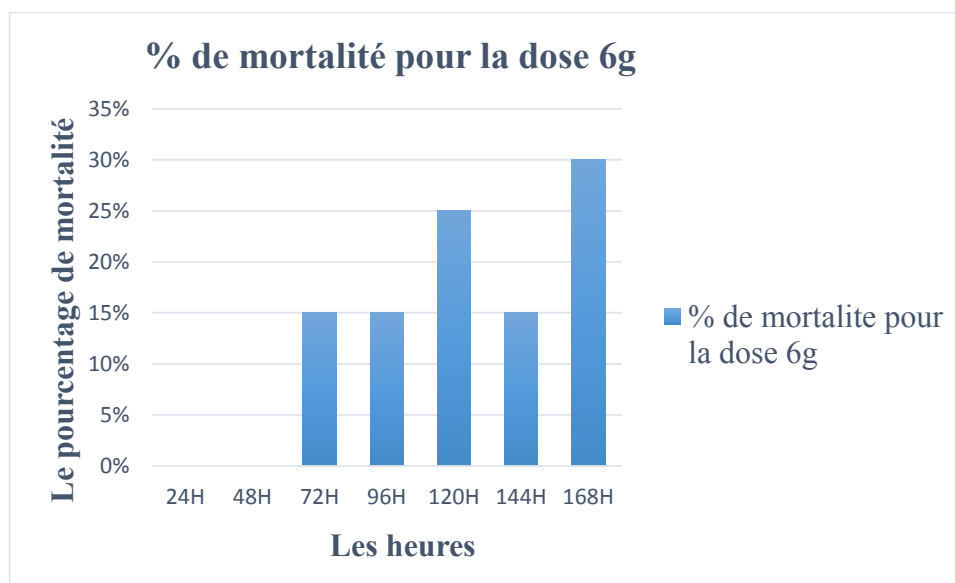


Figure25 : le taux de mortalité en % en fonction de temps pour la dose 6g.

La figure 25 représente un histogramme de taux de mortalité en pourcentage en fonction du temps désigné en heures pour la dose 6g.

Dans les 48h nous n'avons enregistré aucune mortalité, mais au bout des 72h nous avons constatés une augmentation dans le nombre de mortalité, elle arrive au maximum dans les 168h « 30% ».

Tableau 5: les résultats obtenus pour la dose 8g.

heures	24H	48H	72H	96H	120H	144H	168H
la dose 8g	0	1	7	8	3	1	0

Tableau 6 : le taux de mortalité en pourcentage pour la dose 8g.

Heures	24H	48H	72H	96H	120H	144H	168H
%de mortalité pour la dose de 8g	0%	5%	35%	40%	15%	5%	0%

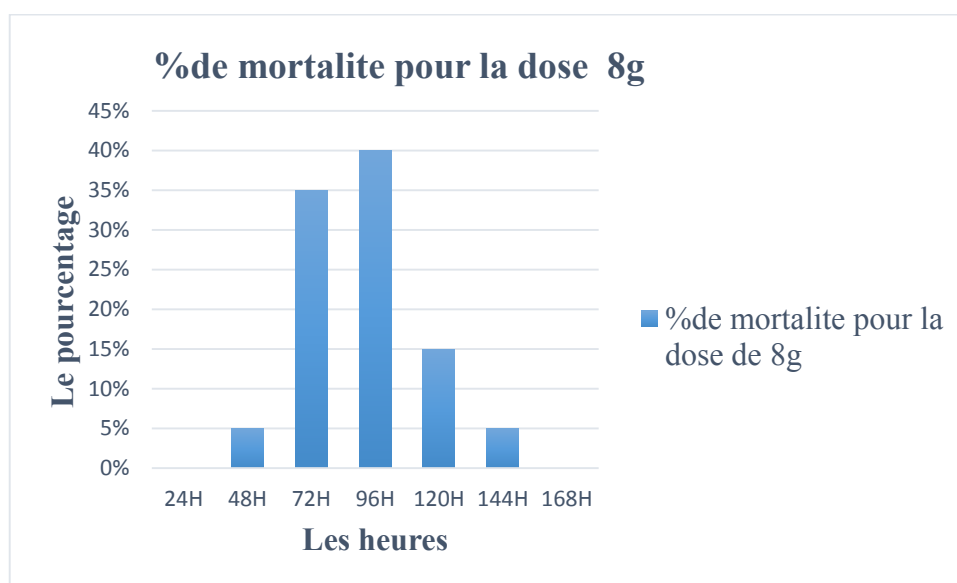


Figure26 : le taux de mortalité en % pour la dose 8g en fonction de temps (heures).

Figure26 s’agit d’un histogramme qui représente le taux de mortalité en % pour la dose 8g en fonction de temps (heures).

Dès les 48h nous avons enregistré une mortalité qui égale à 5% et au bout des 96h nous enregistrons un pic qui égale à 40%, et les totalités des individus sont mortes au bout des 144h.

Tableau7 : résultats obtenus pour la dose 10g.

heures	24H	48H	72H	96H	120H	144H	168H
la dose10g	0	2	5	7	3	3	0

Tableau8 : le taux de mortalité en pourcentage (%) pour la dose 10g.

Heures	24H	48H	72H	69H	120H	144H	168H
%de mortalité pour la dose de 10g	0%	10%	25%	35%	15%	15%	0%

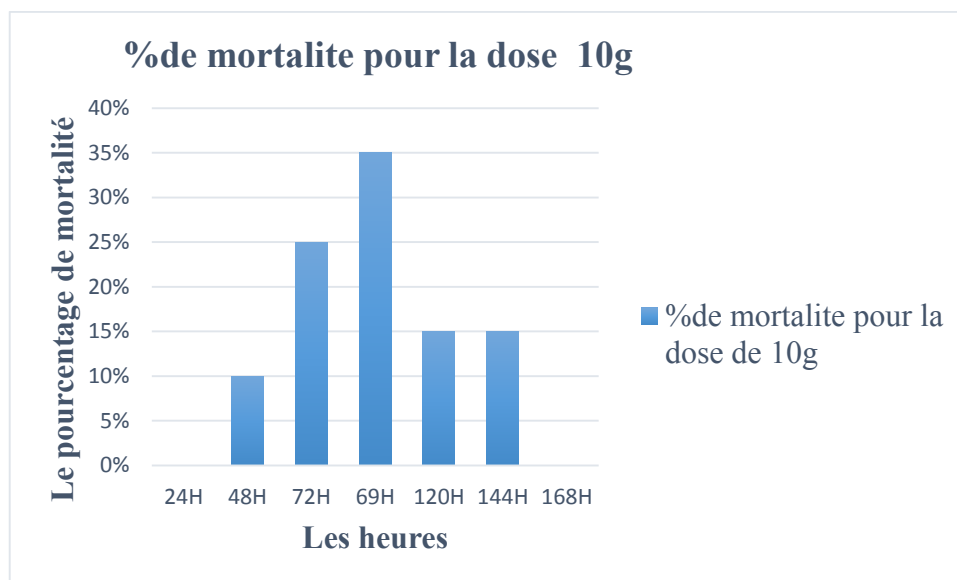


Figure27 : le taux de mortalités en % pour la dose 10g en fonction de temps.

La figure 27 représente un histogramme montrant le taux de mortalité en pourcentage pour la dose 10g en fonction de temps (heures), et ce taux de mortalité on le constate après les 24h, et le maximum c'est au bout des 96h, et après les 144h aucun individu n'est resté vivant.

Tableau9 : les résultats obtenus pour la dose 12g.

Heures	24H	48H	72H	96H	120H	144H	168H
la dose 12g	1	0	8	7	3	1	0

Tableau10 : le taux de mortalité en % pour la dose 12g.

Heures	24H	48H	72H	96H	120H	144H	168H
%de mortalité pour la dose de 12g	5%	0%	40%	35%	15%	5%	0%

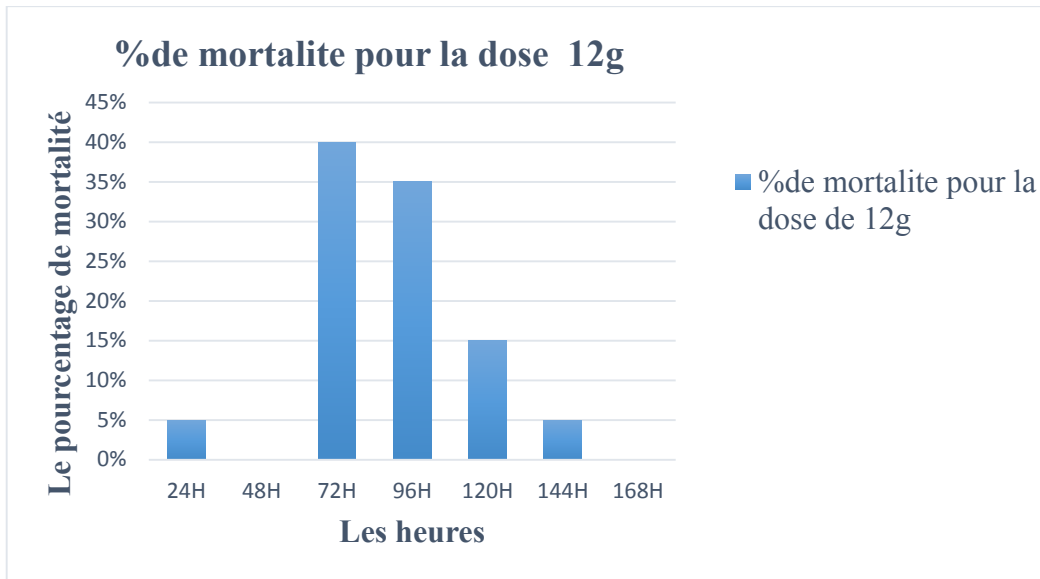


Figure28 : le taux de mortalité en pourcentage pour la dose 12g en fonction de temps.

Tableau11 : les résultats obtenus pour la dose 14g.

Heures	24H	48H	72H	96H	120H	144H	168H
la dose 14g	1	0	8	5	5	1	0

Tableau12 : le taux de mortalité en pourcentage pour la dose 14g.

Heures	24H	48H	72H	96H	120H	144H	168H
%de mortalité pour la dose de 14g	5%	0%	40%	25%	25%	5%	0%

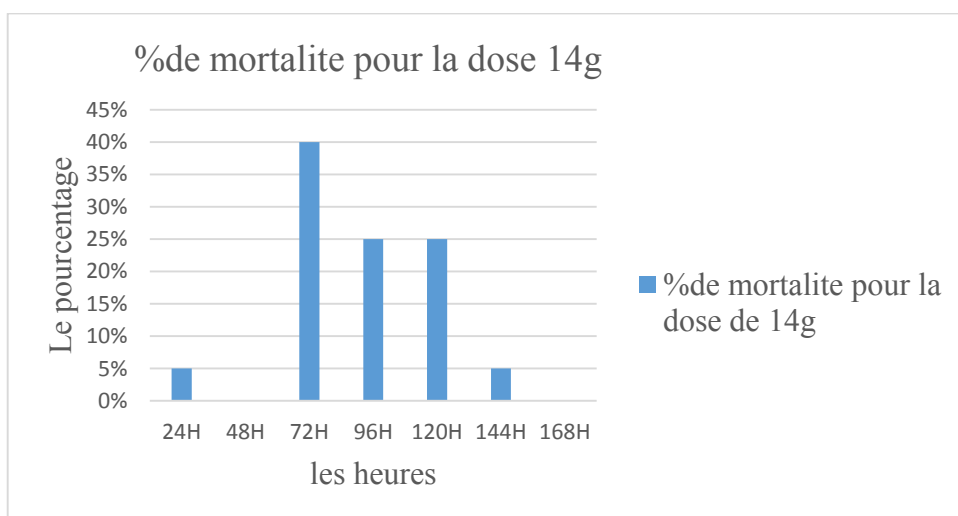


Figure29 : le taux de mortalité en % pour la dose 14g en fonction de temps.

La figure 29 représente un histogramme de taux de mortalité en pourcentage pour la dose 14g en fonction de temps (heures).

14g c'est la plus grande dose quand on a utilisé, déjà dans les 24 on a enregistré une mortalité et au bout de 72 h on a un pic, un maximum de 40%

Tableau 13 : tableau global pour les six doses.

heures	24H	48H	72H	96H	120H	144H	168H
témoin 0g	0	0	1	3	1	2	0
la dose 6g	0	0	3	3	5	3	6
la dose 8g	0	1	7	8	3	1	0
la dose 10g	0	2	5	7	3	3	0
la dose 12g	1	0	8	7	3	1	0
la dose 14g	1	0	8	5	5	1	0

Tableau14 : tableau globale de taux de mortalité en pourcentage pour les six doses.

Heures	24H	48H	72H	96H	120H	144H	168H
%de mortalité pour 0g	0%	0%	5%	15%	5%	10%	0%
%de mortalité pour 6g	0%	0%	15%	15%	25%	15%	30%
%de mortalité pour 8g	0%	5%	35%	40%	15%	5%	0%
%de mortalité pour 10g	0%	10%	25%	35%	15%	15%	0%
%de mortalité pour 12g	5%	0%	40%	35%	15%	5%	0%
%de mortalité pour 14g	5%	0%	40%	25%	25%	5%	0%

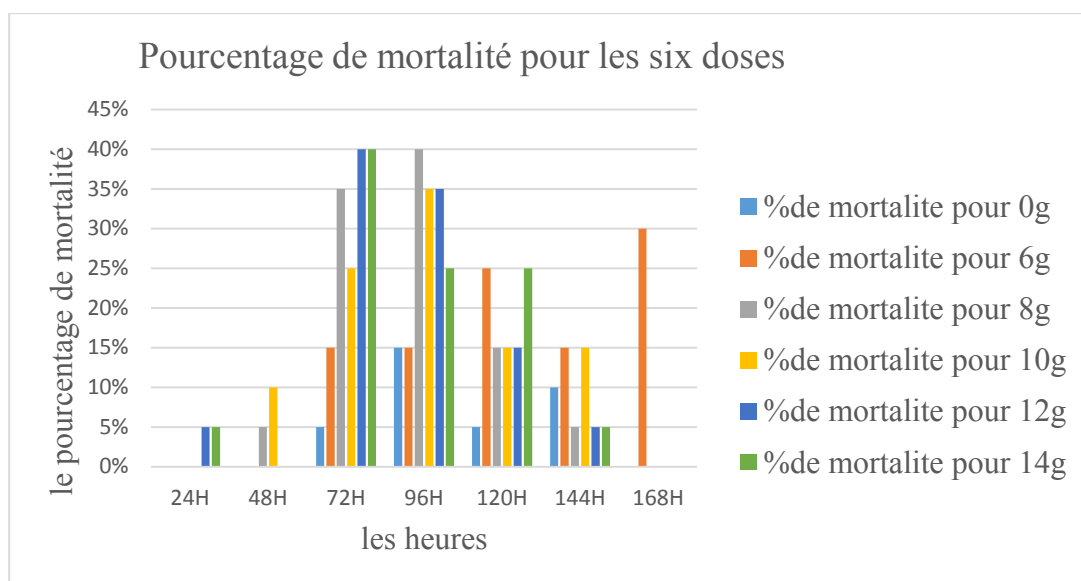


Figure30 : le taux de mortalité en pourcentage en fonction du temps pour les six doses.

La figure30représente un histogramme globale de taux de mortalité en pourcentages des adultes des charançons de riz, traiter par les six doses (0 ; 6 ; 8 ; 10 ; 12 ; 14g) de la poudre de *parmelia acetabulum* pendant 168h.

V.2 Résultats de la chromatographie sur couche mince :

La présente CCM nous a permis l'identification des substances chimiques qui correspondent à notre espèce choisit *Parmelia acetabulum*.

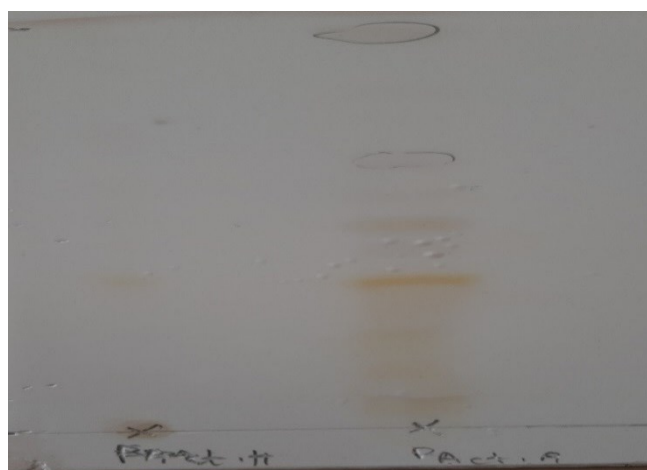


Figure31 : profil chromatographique en solvant (130ml d'Hexane, 80 ml Diethylether ,20 ml d'acide formique)



Figure32 : profil chromatographique en phase mobile (135ml de toluène+20ml d'acide acétique)

Tableau 15 : résultats de migration des substances lichéniques pour le 1^{er} profil chromatographique.

Extrait lichénique avec l'acétone			Extrait lichénique avec l'hexane		
RF	La couleur	La substance correspondante	RF	La couleur	La substance correspondante
0.35	orange	Probablement ac.salazinique	0.36	Jaune d'or lumineux	Acide norstictique
0.49	Jaune d'or lumineux	AC .norstictique			
0.95	Tache pourpre ou brun	Probablement de type dépsides et dépsidones			

Tableau 16 : résultats de migration des substances lichéniques pour le 2eme profil chromatographique.

Extrait lichénique avec l'acétone			Extrait lichénique avec l'hexane		
RF	La couleur	Substance correspondante	Rf	La couleur	La substance correspondante
0.045	orange	Probablement ac.salazinique	0.40	Gris	Probablement ac.divaricatique

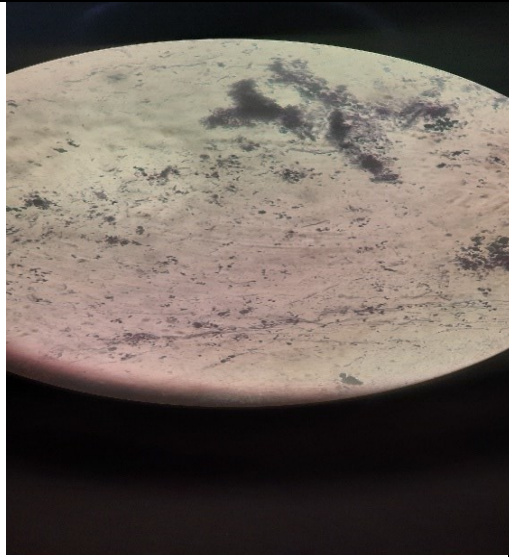
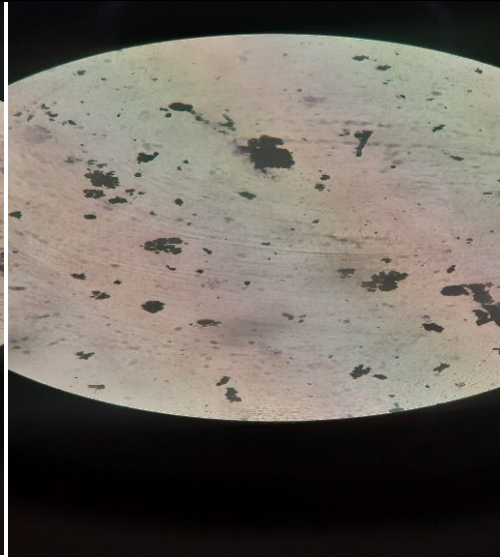
0.24	Jaune pale	Probablement AC. Usnique	0.53	Gris	Probablement ac.divaricatique
0.34	Jaune d'or lumineux	Ac.norstictique	0.60	Vert	Probablement c'est de la chlorophylle
			0.63	Rose claire	Probablement c'est de la zeorine
			0.97	Taches pourpre ou brune	Probablement de type depsides et depsidones

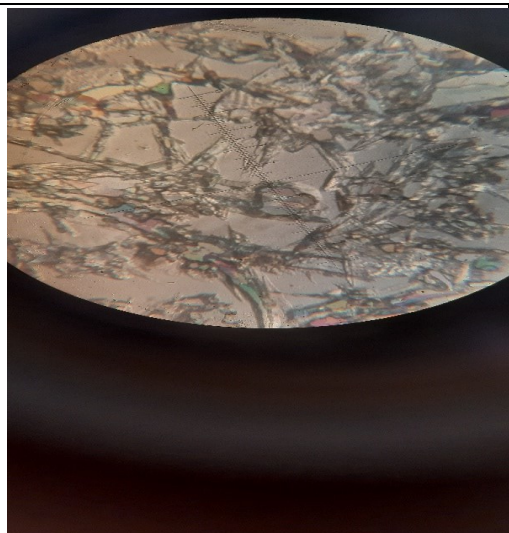
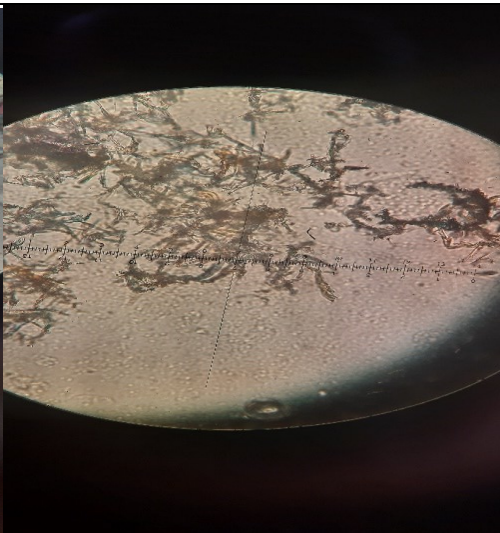
V.3 Résultats de la microcrisallisation :

La microcrisallisation a montrés la présence d'un composé majoritaire chez notre espèce qui est l'acide norstictique, apparait avec des formes différentes selon le réactif cristallogène utilisé.

Tableau 17 : Résultats de la microcrisallisation 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*100.

Le réactif cristallogène utilisé	Extrait lichénique de <i>parmeliaacétabulum</i> avec de l'acétone	Extrait lichénique de <i>parmeliaacétabulum</i> avec de l'hexane
Le GAOT		

Le KK		
-------	---	--

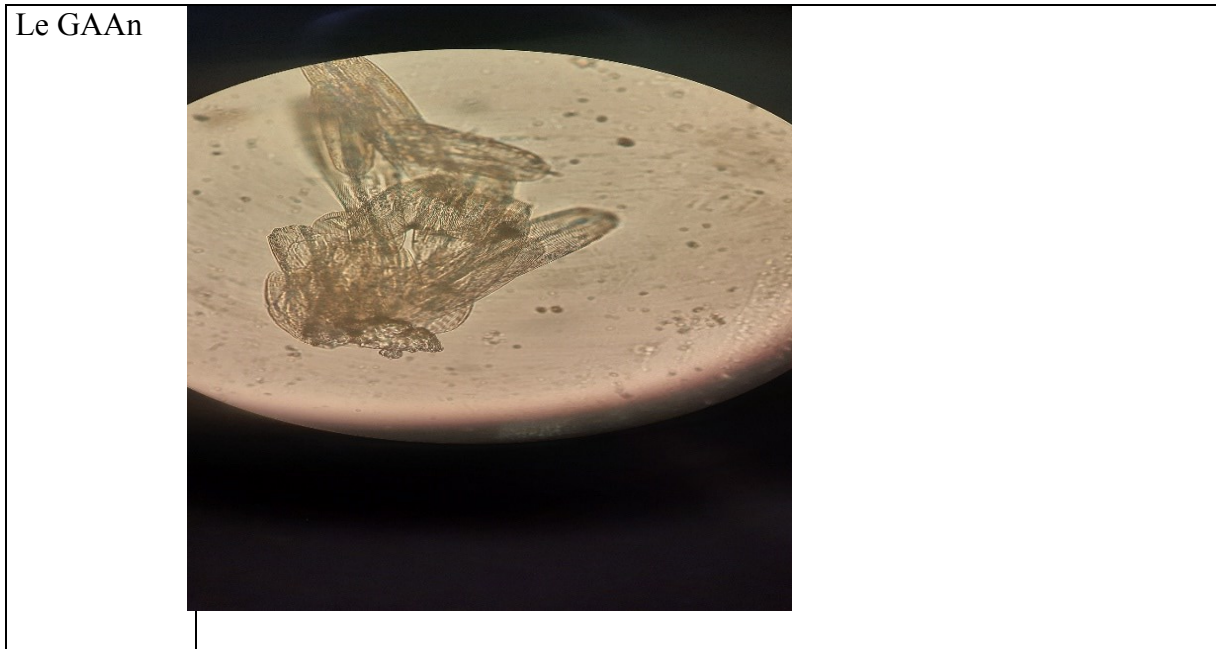


Figure33 : photos originales de résultats de micro cristallisation et s'agit bien de l'acide norstictique (laboratoire de tamda, 2022).

V.4 Discussion :

→on résulte que l'effet de la poudre agit avec des grandes doses :

- Pour les deux grandes doses 12g et 14g le nombre de mortalité commence au bout de 24h contrairement aux autres doses.
- Le plus grand pourcentage se trouve chez la plus grande dose qui est 14g et arrive à 40% au bout des 72h.

-L'extrait de *Parmelia acetabulum* montre un effet insecticide important vis-à-vis des adultes du charançon du riz *Sitophilus oryzae* L. Au fur et à mesure que la dose et la durée d'exposition augmentent le taux de mortalité augmente aussi par rapport au témoin.

-Concernant l'étude qui a été faite par (Slimani et Alouache), qui ont le même thème que nous juste eux l'espèce lichénique choisie c'est *Evernia prunastri*, ont arrivés aussi à un résultat qui montre que l'effet de leur poudre lichénique apparaît à la forte dose et c'est le même cas que nous, malgré que ce n'est pas le même composé majoritaire entre les deux espèces lichéniques différentes (pour *Parmelia acetabulum* le composé majoritaire c'est l'acide norstictique alors que pour *Evernia prunastri* d'après leur étude c'est l'acide usnique et l'acide évernique).

-Cette activité insecticide serait due à la présence de métabolites secondaires tels que les composés phénoliques, les depsidones, les depsones, les lactones, les quinines et les dérivés de l'acide pulvinique (Boustie et Grube, 2005).

-Les techniques de détections des molécules actives (réactions colorés, chromatographie sur couche mince et microcristallisation) nous ont permis de constater que le composé majoritaire de *Parmelia acetabulum* est l'acide norstictique qui est une depsidone, issue de la voie de l'acétate polymalonate. C'est une molécule issue du couplage oxydant intra moléculaire des dépsides, produit par des champignons formant des lichens, il se dépose sous forme de cristaux dans l'apoplaste des lichens, alors que seule une petite proportion est soluble dans l'eau. L'acide norstictique dans le lichen a un rôle potentiel au contrôle de l'absorption des métaux dans des conditions légèrement alcalines (Hauk et al. ,2010).

C'est un métabolite secondaire, qui a l'instar des métabolites secondaires des végétaux, se fixe sur les récepteurs de l'octopamine qui est une neurohormone et un neuromédiateur chez les invertébrés. L'utilisation de ces composés, notamment ceux qui comportent des groupements hydroxyles induisait une activité bio pesticides vis-à-vis de ce ravageur (*Sitophilus oryzae* L.).

En effet, l'acide norstictique comporte plusieurs groupements hydroxyle dans sa structure (figure 34), ce qui expliquera son action sur le site récepteur de l'octopamine du ravageur de riz (*Sitophilus oryzae L.*), cause aussi la diminution de l'activité alimentaire de l'insecte.

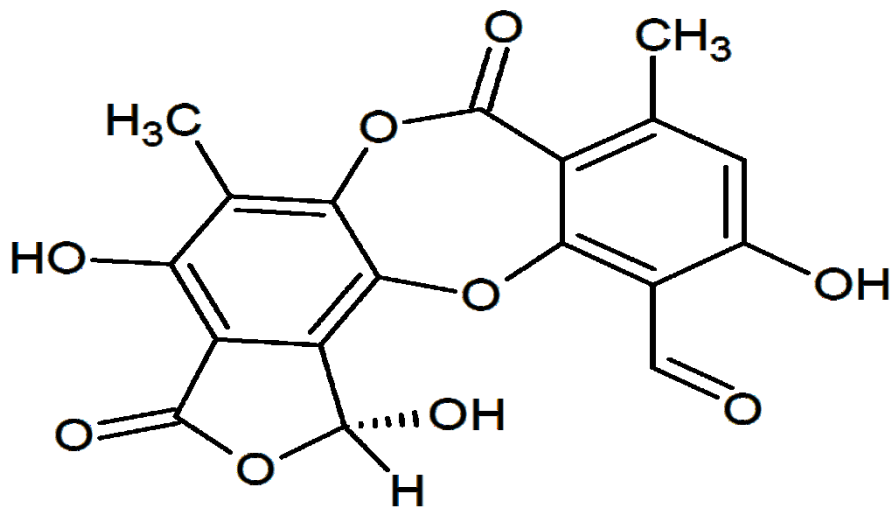


Figure 34 : structure chimique de l'acide norstictique .

Des techniques d'identification (Réaction colorés, chromatographie sur couche mince, microcristallisation nous ont permis de mettre en évidence la présence d'un composé majoritaire qui est l'acide norstictique qui comporte plusieurs groupements hydroxyles qui sont visible dans sa structure chimique qui se fixent sur les sites récepteurs de l'octopamine qui est une substance chimique organique étroitement liée à une norépinephrine et synthétisée biologiquement à l'effet de toxicité myocardique ,peut augmenter la pression artérielle ,peut provoquer des problèmes au niveau neurobiologique .

Les résultats ont montré une forte mortalité à la dose de 14g de poudre lichénique dont le rendement est de 80% de substances lichéniques.

En perspective de recherche, il serait intéressant d'approfondir cette étude en isolant cette substance lichénique majoritaire « acide norstictique » et de la tester sur le même insecte afin de confirmer son action sur ce ravageur « *Sitophilus oryzae L.* »

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.

Liste des figures :

figure1 : photo d'un lichen cohabitant sur une branche (Klorane botanical foundation, 2018).

Figure2 : structure homéomère de *collematenax* (OZENDA et CLAUZADE, 1970).

Figure3 : structure hétéromère radiée, coupe transversale de thalle (TIEVANT, 2001).

Figure4 : structure hétéromère stratifié de *labaria pulmonaria* (TIEVANT, 2001).

Figure5 : lichen fruticuleux *Evernia punastri*, Emilie livre 1872, 1877.

Figure6 : thalles foliacés *xanthoria fallax* (43-

Figure7 : thalle squamuleux *psora decipiens*.

Figure8 : image d'un thalle complexe.

Figure9 : image d'un thalle gélatineux *lathagri umoriforme*.

Figure10 : image d'un thalle lépreux *psilo lechialeucida*.

Figure11 : les voies de biosynthèse des métabolites secondaires lichéniques (Elix, 1996 et stöcker wörgötter, 2008).

Figure12 : structure de base de flavonoïdes

Figure 13 : structure de base des coumarines

Figure14 : *physconia distorta* photo Gilles weiskricher (anab, 2018)

Figure15 : *rhizocarpon geographicum* banque d'image et photos Alamy.

Figure16: *lecanora strobilina* (spreng, kieff ; 1895).

Figure17 : le différent stade de développement de *Sitophilus oryzae* L.

Figure18 : site de récolte de *parmelia acetabulum* (photo original, mai 2022)

Figure19 : localisation de la forêt de Thala Guilef (source, Google maps, 2022)

Figure20 : *parmelia acetabulum* (originale, 2022).

Figure 21 : l'obtention d'un extrait lichénique avec de l'acétone.

Figure 22 : photo original des boites contenant la poudre lichénique a différentes doses, le riz et les insectes.

Figure23 : photo de la 1^{er} chromatographie sur couche mince faite au laboratoire (photo original, juin 2022)

Figure 24 : le taux de mortalité en % en fonction de temps pour le témoin 0g.

Figure 25 : le taux de mortalité en % en fonction de temps pour la dose de 6g

Figure 26 : le taux de mortalité en % en fonction de temps pour la dose de 8g

Figure 27 : le taux de mortalité en % en fonction de temps pour la dose de 10g

Figure 28 : le taux de mortalité en % en fonction de temps pour la dose de 12g

Figure 29 : le taux de mortalité en % en fonction de temps pour la dose de 14g

Figure 30 : le taux de mortalité en pourcentage en fonction du temps pour les six doses.

Figure 31 : profil chromatographique en solvant (130ml d'hexane ; 80ml diethylether ; 20ml d'acide formique).

Figure 32 : profil chromatographique en phase mobile (135ml de toluène +20ml d'acide acétique).

Figure 33 : photos originales de résultats de micro cristallisation et s'agit bien de l'acide norstictique (laboratoire de tamda, 2022).

Figure 34 : structure chimique de l'acide norstictique (File : norstictic acid .png-Wikimedia Commons).

Liste de tableaux :

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

Tableau 2 : le taux de mortalité en % pour la dose de 0g

Tableau 3 : le taux de mortalité pour la dose de 6g

Tableau 4 : le taux de mortalité en % pour la dose de 6g

Tableau 5 : le taux de mortalité pour la dose de 8g

Tableau 6 : le taux de mortalité en % pour la dose de 8g

Tableau 7 : le taux de mortalité pour la dose de 10g

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

Tableau 9 : le taux de mortalité pour la dose de 12g

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

Tableau 11 : le taux de mortalité pour la dose de 14g

Tableau 12 : le taux de mortalité en % pour la dose de 14g

Tableau 13 : tableau global pour les six doses.

Tableau 14 : tableau globale de taux de mortalité en % pour les six doses

Tableau 15 : résultats de migration des substances lichéniques pour le 1^{er} profil chromatographique

Tableau 16 : résultats de migration des substances lichéniques pour le 2^{eme} profil chromatographique

Tableau 17 : résultats de la micro cristallisation avec différents réactif cristallogènes

Références bibliographiques :

- AILI. H ,2014.Inventaire des lichens épiphytes bio indicateurs de la pollution atmosphérique du site de DARNA (TIZI OUZOU).Mémoire de fin d'étude, Master II, protection de l'environnement, UMMTO.
- ALOUACHE .K et SLIMANI. Z, 2021.Evaluation de l'effet bio insecticide *d'Evernia prunastri* sur le charançon de riz (*Sitophilus oryzae.L*).Mémoire de fin d'étude, Master II, biodiversité et environnement
- ANNE.B et AUWENS.A. (2003).les lichens et la qualité de l'air .université catholique de Louvain.
- BENALI. L et TAZEKRIT .N, 2015.Extraction des polyphénols à partir de quelques espèces lichéniques .Mémoire de fin d'étude, master II, génétique et amélioration végétale ,UMMTO.
- CHEBALLAH. O et GASMI .H ,2018.Extraction et essai d'identification de substances lichéniques à partir d'un lichen terricole *Cladonia foliacea* .Mémoire de fin d'étude ,master II ,biologie de la conservation, UMMTO.
- DAMIEN O.J, 2021.Etude de la diversité chimique des lichens par LC-MS : acquisition et optimisation du traitement des données métaboliques, thèse de doctorat, université de Rennes 1, faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques.
- DIEDRICHE.P et FERRAN.J .les macro lichens de Belgique, du Luxembourg et du nord de la France ,192 p., 2004.
- KERBEL-AZZI .S,(2020).valorisation des grignons d'olive comme un moyen alternatif de lutte contre deux insectes ravageurs des graines stockés,*Sitophilus oryzae*(Linnaeus)(Coleoptera :Curculionidae)et *Rhyzoperthadominica* (Fabricius)(Coleoptera :Bostrychidae).thèse de doctorat,Oléiculture-Oléotechnie,UMMTO.P-8-11.
- LAGABRIELLE.J, (2014).la micro cristallisation des substances lichéniques .un outil performant pour le lichénologue.
- OZENDA.P et CLAUZADE.G. (1970).les lichens étude biologique et flore illustrée. Edition : Masson, P.18-23,106-120.
- ROBERT. E et DANIEL. L, 2009. Bull.Ass.Fr, lichénologie vol, 34.Fasc.1.le thalle lichénique.
- ROERDER .T., 1999.Octopamine in invertebrates' .Progress in Neurobiology. vol59:533_561.
- ROUX.C et BELLEMBERE.A et al. (1986).les bases de la systématique moderne des lichens.
- SHOUCHON. C. (1971).les lichens .1^{er} édition .Presses Universitaires de France, p.92-119.
- TIEVANT P. (2001). Guide des lichens .350 espèces de lichens d'Europe .Paris, P.12-26.
- VAN HALUWYN. C et LEROND. M. (1993).Guide des lichens .Edition .le chevalier .paris.

-PYEDRI A et HEBBACHE A ,2018.Etude photochimique et évaluation de l'activité anti oxydante des extraits du lichen *Parmelia caperata* (L.)Ach.Mémoire de fin d'étude, Master Académique, toxicologie fondamentale et appliquée.

ANNEXES

Les résultats obtenus pour le rendement :

- La dose 6g : 71,66%

Le poids initiale =6g

Poids finale=4.3g

$$R = \frac{4.3}{6} * 100$$

R=71,66%

- La dose 8g, Poids final=5.9g, le rendement =73,75%.
- La dose 10g, Poids final=7g, le rendement =70%
- La dose 12g, Poids final=9.3g le rendement=77,5%
- La dose 14g, Poids final=11g, le rendement =80%

Résumé :

Le lichen est un résultat d'une symbiose mutualiste entre deux partenariats, le champignon et une algue chlorophyllienne.

Dans ce présent travail nous avons essayé d'établir une lutte biologique avec de la poudre lichénique de *Parmelia acetabulum* sur les charançons du riz (*Sitophilus oryzae* L.).

Des techniques d'identification (Réactions colorés, chromatographie sur couche mince, microcristallisation) nous ont permis de mettre en évidence la présence d'un composé majoritaire qui est l'acide norstictique.

Les mots clés : lichen, chromatographie sur couche mince, microcristallisation, acide norstictique, substances lichéniques, *Sitophilus oryzae* L., *Parmelia acetabulum*.

Summary:

Lichen is a result of a mutualistic symbiosis between two partnerships, a fungus, and is a chlorophyll algae.

In this work we have tried to establish a biological control with lichen powder of *Parmelia acetabulum* on rice we evils (*Sitophilus oryzae* L.).

Identification techniques (colored reaction, chromatography on thin layer, microcrystalization) allowed us to highlight the presence of a majority compound which is norstictic acid.

Keywords: lichen, thin layer chromatography, microcrystalization, norstictic acid, lichen substances. *Sitophilus oryzae* L., *Parmelia acetabulum*.