

**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 Biochimie et Microbiologie**



## **Mémoire De fin d'études**

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

Option : Biotechnologie et valorisation des plantes

### **Thème**

Etude de l'effet bio insecticide de la poudre lichénique de *Anaptychia ciliaris* sur le ravageur du blé dur (*Tribolium confusum* L., 1753)

### **Travail réalisé par :**

Melle Nait Abderrahmane Tinhinane

Melle Yermeche Lydia

### **Membres de jury :**

Président : M<sup>R</sup> LIMANE. A

Maitre de conférences de classe A UMMTO

Promotrice : M<sup>me</sup> SAHMOUNE.F

Maitre assistante classe A UMMTO.

Examineur : M<sup>me</sup> AKLI. A

Maitre assistante classe B UMMTO

**2022 / 2023**

# Remercîment

باسم الله الرحمن الرحيم

**On tient avant tout a remercié Dieu à nous donner la volonté et la force pour achever ce Travail**

**D'abord on voudrait adresser toute nos profonds et sincères remerciements à madame Sahmoune Fadhila, on tient tout particulièrement à la remercie pour nous avoir accepté de nous encadrer et nous a ouvert accès à son laboratoire afin de réaliser notre projet de fin d'étude et de nous avoir conseillé, encouragé et soutenue, qu'elle soit assuré de notre respect.**

**On désir aussi remercier la responsable de notre spécialité Mr Limane Abdelkrim professeure a l'UMMTO de nous avoir fournis les outils nécessaires à la réussite de nos études durant ces deux dernières années.**

**Nous remercions tous les enseignants ayant contribué à notre formation.**

**Enfin, un grand Merci pour tous ceux qui ont participé de près ou de loin au succès et ou réalisation de ce travail pour leur aide et encouragement.**

**Le vrai point d'honneur d'un scientifique n'est pas toujours d'être toujours dans le vrai. Il est d'oser, de proposer des idées neuves et ensuite de les vérifier.**

**Pierre-Gilles de Gennes**

# Dédicace

*Un moral d'acier et une volonté de fer décrivent bien mon parcours jusqu'ici.*

*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, 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 avez toujours cru en moi et su me redonner confiance lorsque la motivation n'était plus au rendez-vous, ton soutien moral ainsi que pour ton efforts, sacrifices et encouragements durant tout mon parcours.*

**A mes frères :**

*Nourdine et Hanafi et*

**Ma petite sœur la plus adorable :**

*Aicha*

*A mes Oncles et tantes et tous mes proches*

*A mon cher grand père que dieu le porte dans ces vastes paradis : Mohamed*

*A mes amies avec lesquelles j'ai partagé mes meilleurs moments:*

*Zaina, Smina, Tinhinane et mon binôme Lydia.*

# Dédicace

***Je dédie ce travail :***

*Au pilier de ma vie, ma source de force et de rassurance, mon cher PAPA*

*A la lumière de ma vie, ma source d'Amour et d'Affection, ma chère MAMAN*

***A ma très chère sœur Yasmine***

***A toutes ma famille : Mon oncle Tarik et sa femme Nassima, mes tantes, grands-mères.***

***A mes petits cousine : Serine et Lina***

***A mon petit cousin :Juba***

***A toutes mes amis : Katia, Abdou, Tinhinane, Lydia, Katia***

***A mon binôme Tinhinane***

***A tout mes collègues***



# Sommaire

Remerciement	
Dédicaces	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Introduction.....	01
Chapitre I : Généralités sur les lichens	
I.1-Définition des lichens.....	03
I.2-Anatomie des lichens.....	03
I.3-Les organes spéciaux du thalle lichéniques.....	04
I.3.1-Organes portés par la face inférieure du thalle.....	04
I.3.2-Les organes portés par la face supérieure du thalle.....	04
I.4-La morphologie des lichens.....	06
I.5-Les différents types de thalles .....	06
I.6-La Symbiose des lichens.....	09
I.6.1-Définition de la symbiose .....	09
I.6.2-Les constituant des lichens.....	10
I.6.3-Les rapports algues-champignon et la nature de la symbiose lichénique.....	11
I.7-La reproduction des lichens.....	12
I.7.1-La multiplication végétative.....	12
I.7.2- La reproduction sexuée.....	13
I.8- La biochimie des lichens .....	13
8.1- La biosynthèse des substances lichénique .....	13
8.1.a-La voie de l'acide mévalonique.....	14

8.1.b-La voie de l'acide shikimique.....	14
8.1.c-La voie acétate-polymalonates.....	15
8.2.-La localisation des substances lichénique .....	15
8.3-Importation des substances lichénique.....	15
Chapitre2 : Matériels et méthodes	
1.1-Matériel animal .....	17
1.1-Caractères généraux de la famille de <i>Tribolium confusum</i> .....	17
1.2-Position systématique de <i>Tribolium confusum</i> .....	17
1.3-Les dégats causés par le <i>tribolium confusum</i> .....	18
2-Matériel végétale.....	19
2.1-Présentation du site du prélèvement.....	19
2.2-Description de l'espèce <i>Anaptichya ciliaris</i> .....	19
2.3-Paramètre écologique.....	20
2.4-Classification d' <i>Anaptichya ciliaris</i> .....	20
3-La méthodologie.....	21
3.1-La récolte des lichens.....	21
3.2-La préparation du matériel végétale .....	21
3.3-L'extraction des substances lichénique.....	21
3.4-Activité bio-insecticide de la poudre lichénique.....	21
3.5-chromatographie sur couche mince .....	22
3.5.a-Description de la technique .....	22
3.6-La micro cristallisation.....	24
3.6.a-Préparation des réactif cristallogène.....	24
3.7-Calculer de rendement .....	25
3.8-Dosage des polyphenole totaux.....	25

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

1-L'activité de bio-insecticide de la poudre lichénique <i>d'Anaptycia ciliaris</i> .....	27
2-Résultats de la chromatographie sur couche mince .....	30
3-Résultats de la microcristallisation.....	31
4-Résultats de rendement d'extraction.....	33
5-Dosage des Poly phénols totaux.....	33
6-Discussion.....	36
7-Conclusion.....	37
8-Résumé.....	38
9-Référence bibliographique .....	39

# Liste des figures

Figure 01 : image d'une structure homéomère de collematenaux (OZENDA et CLAUZADE,1970).....	03
Figure 02 : Structure hétéromère stratifié de lobaria pulmonaria (TIEVANT,2001).....	04
Figure 03 : Structure hétéromère radiée d'une coupe transversale du thalle TIEVANT ,2001).....	04
Figure 04 : Lichen fruticuleux evernia prunastri (Laboratoire biologique 2013).....	07
Figure 05 : Thalle foliacé xanthoria parietina (Laboratoire biologique 2023).....	07
Figure 06 : Thalle squamuleux (AFL ,novembre 2022).....	08
Figure 07 : image d'un thalle complexe (Gavériaux J.P,2012-2014).....	08
Figure 08 : image d'un thalle gélatineux .....	09
Figure 09 : image d'un thalle lépreux psilo lechialucida .....	09
Figure 10 :Les voies de biosynthèse des métabolites secondaire lichéniques .....	14
Figure 11 : structure chimique des flavonoïdes.....	14
Figure 12 : structure chimique de la coumarine.....	15
Figure 13 : Les différents stades du développement de Tribolium Confusum.....	18
Figure14 :zonede recolte de l'espèce lichénoïque Anaptychia ciliaris .....	19
Figure 15 : Espèces lichénique <i>Anaptychia ciliaris</i> (Stapper2001).....	20
Figure16 :L a macération biologique mai 2023).....	21
Figure 17 :Photo original des boites contenant la poudre lichénique a différente doses la semoule et les insectes .....	22
Figure 18 : La 1 <sup>er</sup> CCM réalise avec l'hexane et l'acide formique et diethylether(Laboratoire biologique mai 2023).....	23
Figure 19 : La 2 <sup>eme</sup> CCM réalise avec du toluène et l'acide formique.....	23
Figure 20 : Le taux de mortalités en pourcentage en fonction du temps pour le témoin 4g.....	27
Figure 18: Le taux de mortalités en pourcentage en fonction du temps pour la dose 6g.....	28

Figure 23 : Le taux de mortalité en pourcentage pour la dose 12g en fonction de temps (heure).....	29
Figure 24 : Le taux de mortalité en pourcentage pour la dose 8g en fonction de temps.....	30
Figure 25 : Profil chromatographique de la 1 <sup>er</sup> CCM .....	30
Figure 26 : Profil chromatographique de la 2 <sup>em</sup> CCM.....	31
Figure 27 : Resultats de la microcristaliation .....	32
Figure 28 : La courbe d'étalonnage d'acide gallique.....	33

# Liste des tableaux

Tableau 01 : Le taux de mortalité pour la dose 0g (témoin).....	27
Tableau 02 : Le taux de mortalité pour la dose 4g .....	27
Tableau 03 : Les résultats obtenus pour la dose 6g .....	28
Tableau 04 : Les résultats de mortalité pour la dose 8g.....	28
Tableau 05 : Les résultats obtenus pour la dose 12g.....	29
Tableau 06 : Tableau globale pour les cinq doses .....	29
Tableau 07 : tableau globale de taux de mortalité en pourcentage pour les cinq doses .....	29
Tableau 08 :Resultats de migration des substances liche,ique pour la 1 <sup>er</sup> CCM.....	31
Tableau 09 : Rendement de l'extrait acétonique <i>Anaptychia ciliaris</i> .....	33
Tableau 10 : Résultats de la teneur en composés phénoliques totaux de l'extrait lichénique d' <i>Anaptychia ciliaris</i> .....	34
Tableau 11 . Tableau de concentration de 3 essais de l'extrait d' <i>Anaptychia ciliaris</i> .....	34
Tableau 12 : le taux de mortalité pour la dose 4g .....	35
Tableau 13 : le taux de mortalité pour la dose 12g.....	35

# Liste des abréviations

CCM: chromatographie sur couche mince

D: distance entre la ligne de dépôt et le front de solvant

d: distance entre le centre de cercle de molécule et le dépôt

% : pourcentage

g : gramme

h : heure

CCM : Chromatographie sur couche mince.

RE : Rendement d'extraction.

RF : Rapport frontal.

GAW : Glycérol-Ethanol-eau.

GE : Glycérol-Acide acétique glacial

# INTRODUCTION

---

Le mot lichen remonte à l'Antiquité grecque, il faut pour la première fois appliqué à des végétaux au IV<sup>e</sup> siècle avec J.C par le grec Théophraste, disciple d'Aristote. Ce mot signifiant d'artre ou crouste et désignait alors des végétaux comprenant à la fois les lichens les mousses et les hépatiques (pascale, 2001).

Les lichens sont les organismes uniques symbiose d'une algue ou cyanobactérie et d'un champignon, est décrite pour la première fois par Schwendener et De Bary (Coste, Novembre 2008) produisant les métabolites biologiquement actifs (Joël 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 appelés aussi substances lichéniques ou acides lichéniques, sont des molécules très complexes insolubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques. Elles exercent plusieurs effets biologiques : antivirales, antibactériens, antioxydants, antihelminthiques et insecticides (Vinyaka et al. 2009., Tatjana et al, 2011).

Des travaux ont été réalisés pour montrer l'effet bio-insecticide de certaines substances lichéniques, notamment l'effet bio-insecticide d'*Evernia prunastri* sur le charançon du riz (*Sitophilus oryzae*. L) (Alouache et Slimane 2021).

Mais aucune étude sur l'effet bio-insecticide d'une poudre lichénique sur une espèce ravageur du blé n'a été encore réalisée au sein de notre université, c'est pour cela l'étude que nous avons menée vise à montrer l'activité bio-insecticide de cette espèce lichénique sur un insecte ravageur de blé, *Tribolium confusium* L., 1753.

Nous nous sommes intéressées à une espèce fruticuleuse qui est *Anaptychia ciliaris*. Cette espèce lichénique a été récoltée dans la forêt d'Iferhounen qui est caractérisée par une abondance des espèces lichéniques.



## 1-Définition des lichens

Les lichens sont des organismes composites appartenant au règne des Fungi .Ils sont le résultat d'une symbiose entre un champignon hétérotrophe appelé mycobionte 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.

Il existe 13250 espèces de champignons et 40 espèces d'algues qui sont lichénisantes (Van Haluwyn et Lerond, 1993).

## 2-Anatomie des lichens

Il existe deux structures :

- Structure homéomère (figure 1)
- Structure hétéromère (figure 2)

### a -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.

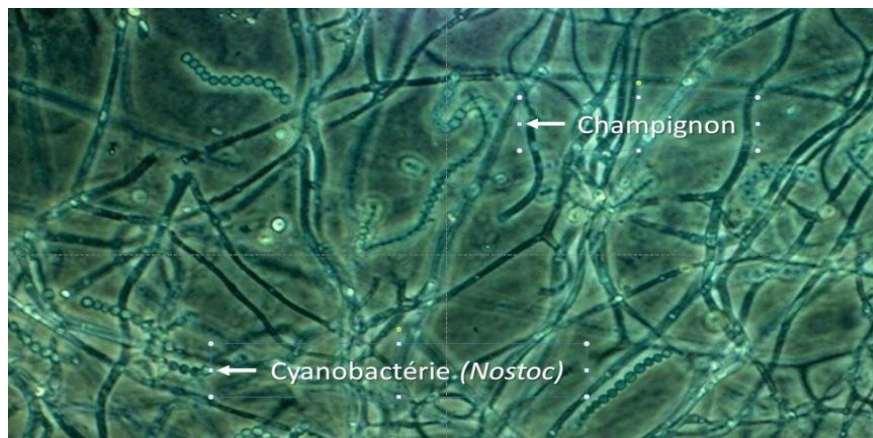


Figure1 : Structure homéomère de *collematenax* (OZENDA et CLAUZADE, 1970)

### b-Structure hétéromère

Elle est caractérisée par l'existence de plusieurs couches superposées bien visible sur une section transversale sauf dans la structure filament. La photo symbiote constitue une zone bien délimitée entre les couches du mycosymbiote (VAN HALLUWYN 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 Stratifiée

Dans la plupart des thalles foliacés, chez de rares lichens fructiculeux (*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 2: Structure hétéromère Stratifié de *Lobaria pulmonaria* (TIEVANT, 2001).

### ❖ Structure radiée

Elle existe sur la plupart des thalles fructiculeux 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 CLAUSADE, 1970).

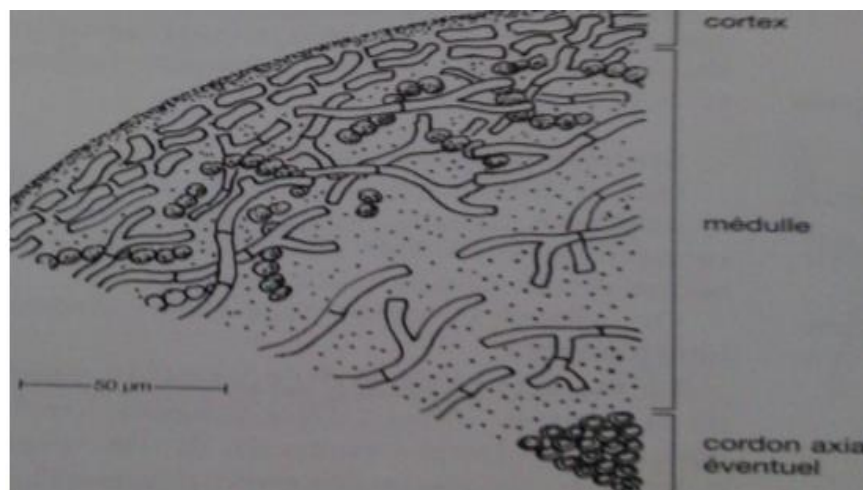


Figure 03: Structure hétéromère radiée : coupe transversale du thalle (Tievant, 2001).

### 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 HALLUWYN et LEROND ,1993).

#### 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 stictaoule fond de la dépression est revêtu d'un cortex modifié formé de cellules globule ménagement entre elles des espaces vides (Ozenda et Clauzade,1970).
  - **Pseudo\_cyphelle** : Ce sont des ouvertures du cortex inférieure et supérieure laissent apparaitre la médulle.
- Elles ont un rôle important dans les échanges gazeux avec l'atmosphère sont beaucoup plus répondues par exemple chez *Ranalina* (Généves, 1990).

#### 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 acétabulum*
- **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** : 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 gonidies sont des chlorophycées telle que *Peltigera aphthosa* (OZENDA ET CLAUZADE, 1970).

#### 4-La morphologie des lichens

Le thalle est l'appareil végétatif des lichens, il assure la nutrition, l'entretiens 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).

#### 5 -Les Différentes 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 leur couleur offre peu de contraste avec celle 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 épiphléodesépilithiques 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 vermicularis*.
- Tiges ramifiées, plus ou moins plates avec section anguleuse exemple : *Letharia vulpina*.



Figure 4 : Lichen fruticuleux *Evernia Prunastri*, (laboratoire biologie 2023).

- **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 racelles (rhizines) jouant le rôle de moyen de fixation.



Figure5 : Thalle foliacé *Xanthoria parietina* (Laboratoire Biologie 2023)

- **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.

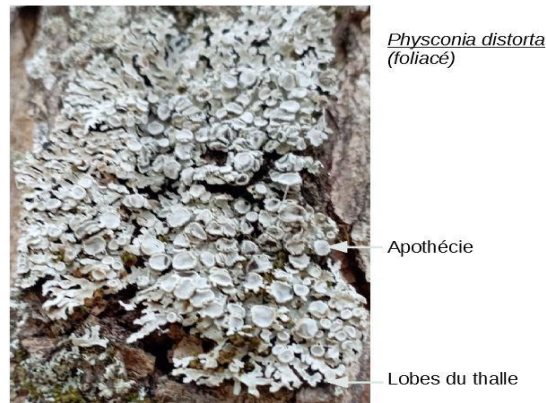


Figure6 : Thalles Squamuleux *Physconia distorta* (AFL, Novembre 2022).

- **Thalles complexes**

\*Particuliers aux cladonia et Stéréocaulon, 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.



Figure7 : Image d'un Thalle complexe (Gavérniaux J.P, 2012-2014)

- **Thalles gélatineux**

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



Figure 8 : Une image d'un Thalle gélatineux *Lathogrium auriforme* (J.P Gavériaux)

- **Thalle lépreux**

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



Figure 9 : Thalle lépreux *psilechia lucida* (P.l François)

## 6 -La symbiose des lichens

### 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 important, il joue le rôle de protection pour la photo symbiose. Hétérotrophe, le champignon apporte au photosymbiote : l'eau, les 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 propre et spécifique

- Fixation sur le substrat.
- Maintien de l'équilibre hydrique.
- Régulation de la photosynthèse.
- La symbiose lichénique limite donc pas un partenariat entre deux ou trois constituant et le thalle peut être considéré comme un véritable écosystème complexe.
- La symbiose lichénique est créative de biodiversité systématique, morphologique et biochimique.

## 6.2-Les constituants des lichens

Les lichens ne constituant par 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 de point de vue du photosymbiote (algues), et mycosymbiote (champignon).

### ➤ Les champignons constituants des lichens (Mycosymbiote)

Le champignon est dans la 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 lichénique 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 Bascidio mycatina, 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 lichénisée qui associe avec une Nostocacée pour constituer géosiphon pyriforme deux *myscomycota* ont été observés en association avec trois espèces de chlorella, et certains actisiomycètes peuvent en symbiose avec une algue constituer une association ressemblant à un lichen.

➤ **Les algues constituant les lichens**

- Les algues des lichens est « l'associé interne » (traduction anglaise in habitant) de la définition officielle des lichens, celui qui réalise les synthèses organiques.
- Les photosymbioses ont été moins étudiées que les mycosymbioses.
- Les photosymbioses au stade lichénisé sont souvent modifiées.
- La majorité des algues, contractant une alliance symbiotique sont des chlorophytes (ou Algues vertes) les charophytes sont les mieux représentés.
- Certains photosymbioses peuvent vivre non lichénisés dans la nature (Van HALLUWYN et LEROND, 1993).

### 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 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 haptoriums à l'intérieur même de l'algue (SOUHCHON ,1971).

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

## 7-La reproduction des lichens

La reproduction des lichens se fait par deux manières :

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

### 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 (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 MALUWYN, 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 MALUWYN, 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 MALUWYN, M.LEROND, 1993).

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

## 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 des pycnides (ou conidamnges) libérant des pycnidiospores ou pycnogonides.

### ❖ 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 MALUWYN, M.LEROND, 1993).

### ❖ Périthèces

Ce terme tire son origine de deux mots grecs : Péri, autour et théké : 2tui. 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 MALUWYN, M.LEROND, 1993).

## 8-La biochimie des lichens

### 8.1-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 polymalonates ou polycétide synthèse ; les autres métabolites secondaires sont issus des voies de l'acide shikimique et de l'acide mévalonique

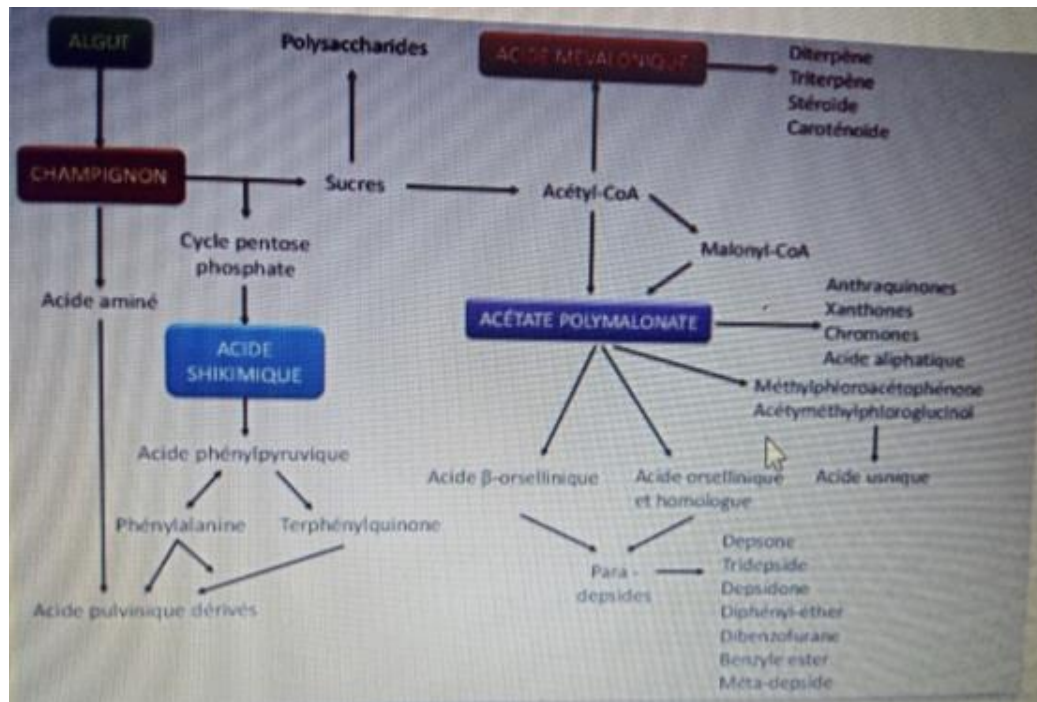


Figure 10 : Les voies de biosynthèse des métabolites secondaires lichéniques (ELIX, 1996 et STOCKER WÖRGÖTTER, 2008).

**8.1.a-La voie de l'acide mévalonique**

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

**8.1.b-La voie de l'acide shikimique**

Cette voie permet la synthèse d'acides aminés aromatiques (phénylalanine, tyrosine, tryptophane) chez les plantes sont sur des précurseurs des flavonoïdes, des coumarines, ou encore des alcaloïdes.

La phénylalanine serait le précurseur via la formation d'acide polyporique de l'acide pulvinique di lactone.

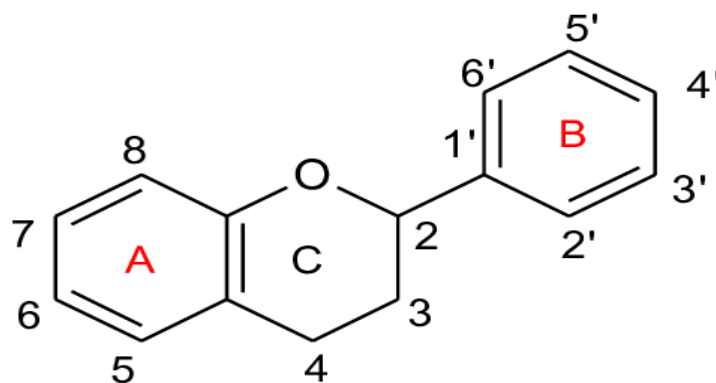


Figure 11 : structure chimique des flavonoïdes

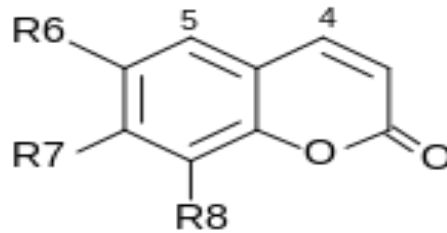


Figure 12 : structure chimique de la coumarine.

### 8.1.c-La voie des acétates polymalonates

Plusieurs unités d'acétates se condensent pour conduire à des dérivés cétonique qui se cyclisent ensuite, pour forme enfin des quinones (Dérivés 1-8 dihydroxyanthracénique), naphtodianthrone, et orcinole qui donne des depsidone.

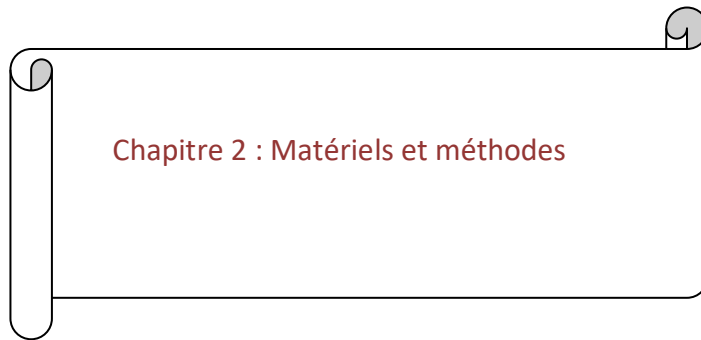
### 8.2 -La localisation des substances lichéniques

Certains composés tel que le dibenzofurane (acide usanique) depsides, depsidone 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)

### 8.3-Importation 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.



**1-Matériel animal**

Le charançon de la semoule (*Tribolium confusum*)

**1.1-Caractères généraux de la famille des *Tribolium confusum***

*Tribolium confusum*, le petit ver de la semoule, tribolion brun de la semoule, c'est une espèce d'insectes coléoptères de la famille des Tenebrionidae à répartition cosmopolite

C'est un insecte ravageur commun connu pour attaquer et infester les denrées alimentaires stockées, notamment la farine et les grains de céréales, rougeâtre brillant. L'appendice prosternal est nettement élargi à l'apex. Les antennes se terminent en massue composée de cinq articles. L'insecte est très proche morphologiquement de *Tribolium castaneum* (tribolion rouge de la farine).

Les adultes sont très actifs et se déplacent rapidement quand ils sont dérangés, mais ils sont incapables de voler.

La durée de vie moyenne des adultes est d'environ un an. Les femelles, très prolifiques, pondent une moyenne d'environ 450 œufs. Ceux-ci sont pondus directement sur les matières alimentaires (farine, grains cassés) auxquelles ils adhèrent grâce à une sécrétion collante.

Les larves éclosent au bout de cinq à douze jours et achèvent leur croissance en un à quatre mois. Au dernier stade de développement, les larves, de couleur jaunâtre, mesurent environ 5 mm de long.

le nombre de stades larvaires varie de 5 à 12 selon la température, l'humidité relative et la qualité de l'alimentation.( William H. Robinson, *Urban Insects and Arachnids : A Handbook of Urban Entomology*2005,480p).

**1.2 –Position systématique de *Tribolium Confusum***

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	Endopterygota
Infra-ordre	Cucujiformia
Superfamille	Tenebrionoidea
Famille	Tenebrionoidea
Genre	<i>Tribolium</i>
Espèce	<i>Tribolium confusum</i>

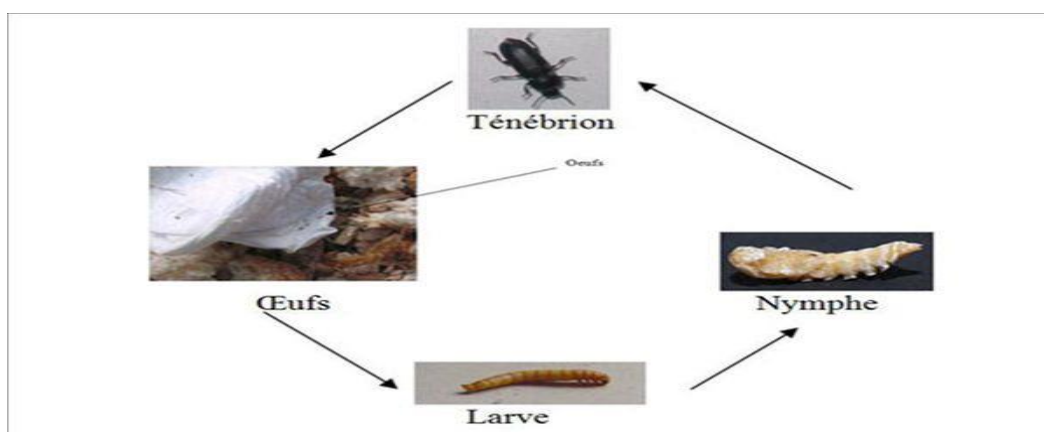


Figure 13 : Les différents stades du développement de *Tribolium Confusum* ecole-de-thoraise(3mai2011)

### 1.3-Les dégâts causés par *T. confusum*

Ces insectes ont un régime très polyphage .Le Tribolium brun 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).

## 2-Le MATERIEL VÉGÉTAL

### 2.1-Présentation de site de prélèvement

Géo localisation de la forêt d'Iferhounen : La récolte de l'espèce lichénique *Anaptychia ciliaris* a été effectuée au mois d'avril 2023 dans la forêt du village d'Iferhounen à 1100 m d'altitude. Ce site se situe à 70Km au nord-est de Tizi Ouzou parmi les régions les plus hauts.

Elle est délimitée

**Au nord** : Village Ait hammou à 1108 m d'altitude.

**Au sud** : Commune Abi youcef ou le pont culminant est celui nomme la dent du lion à 1100m d'altitude.

**A l'Est** : Commune Imsouhal à 1076m.

**A l'ouest** : commune Illiten 885m



Figure14 : zone de récolte de l'espèce lichénique *Anaptychia ciliaris*

### 2.2-Description de l'espèce récoltée *Anaptychia ciliaris*

*Anaptychia ciliaris* vient du préfix « ana » =en haut et du grec « ptycho »=pli et ciliaris vient du latin « cilium » =cil et du suffixe latin « aris » qui signifie relatif à, pourvu de cils, cilié.

C'est un lichen fruticuleux en forme de lumière grise peu adhérent aux substrats, sans soralies et sans isidies. La face supérieur du thalle grise à brunâtre (vert sombre à l'état humide), la face inférieur est claire réticulé et sans rhizines. Les lobes sont très allongés avec de longs cils clairs à sombre sur les bords. Les apothécies sont en forme de coupe ou aplatis.

Les hyphes du cortex supérieur sont parallèles à la surface (perpendiculaire chez les *physcia* et les *physconia*).

Cette espèce est facile à distinguer des autres lichens fruticuleux par la présence de longs cils marginaux (Kirschbaum Wirth, 1997).



Figure 15 : Espèces lichénique *Anaptychia ciliaris* (Stapper 2001)

### 2.3-Paramètres écologiques

*Anaptychia ciliaris* préfère les arbres bien éclairés à écorce riche en substances nutritives. En raison de sa faible toxicité, cette espèce est presque condamnée à disparaître des régions qui ne sont pas indemnes de pollution (Kirschbaum Wirth, 1997).

### 2.4-Classification actuelle

Règne	Fungi
Embranchement	Ascomycota
Sous-embranchement	Pezizomycotina
Classe	Lecanoromycètes
Sous classe	Lecanoromycetidae
Ordre	Teloschistales
Famille	Physciaceae
Genre	<i>Anaptychia</i>
Espèce	<i>Anaptychia ciliaris</i>

### 3-La méthodologie

#### 3.1-La préparation du matériel végétal

L'espèce lichénique récoltée 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.

#### 3.2-L'extraction des substances lichéniques

L'extraction a été réalisée par la technique de macération qui consiste à laisser la poudre dans un solvant 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). La macération se fait à température ambiante pour éviter la dégradation des substances lichéniques.

D'abord dans l'hexane solvant apolaire ensuite dans l'acétone qui est un solvant polaire on met 0.3g de poudre lichénique sont macérés dans un tube, en présence de 10 ml d'acétone, (figure 16).



Figure16 : La macération (originale laboratoire biologie Mai 2023)

#### 3.3-Activité bio insecticide de la poudre lichénique

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

Nous avons introduits 50g du blé dans chaque boîte en plastique contenant préalablement des adultes de pucerons (*Tribolium confusum* L., 1753), nous avons mis 20 individus dans chaque boîtes, et nous avons ajouté des quantités différentes de la poudre de *Anaptychia ciliaris* en gramme : 6g ;8g ; 10g ; 12g .

Une boîte 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 boîte après chaque comptage.



Figure 17 : photo original des boites contenant la poudre lichéniques à différentes dose, la semoule et les insectes

### 3.4-La chromatographie sur couche mince CCM

#### 3.4.a-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.

Elle comprend :

- **une phase stationnaire** : une couche mince de matériel adsorbant.
- **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** : Nous avons mis pour la phase mobile 130ml d'hexane ,20ml d'acide formique et 80ml de diethylether.

**-Pour la 2eme CCM** : Dans la phase mobile nous avons mis 135ml de toluène et 20ml d'acide acétique

Sur la plaque de chromatographie nous avons tracé un trait de départ de 2cm et sur ce trait nous avons mis cinq gouttes pour chaque extrait lichénique (acétone et l'autre pour hexane).

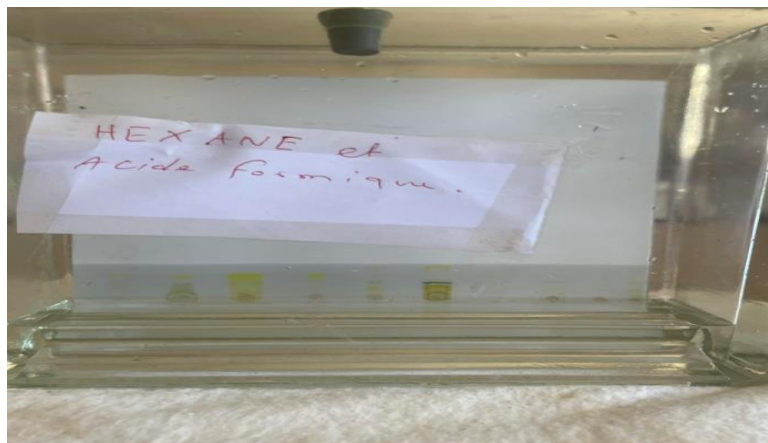


Figure18 : La 1ere CCM réalisé avec l'hexane et l'acide formique et diethylether,( laboratoire biologie2023).

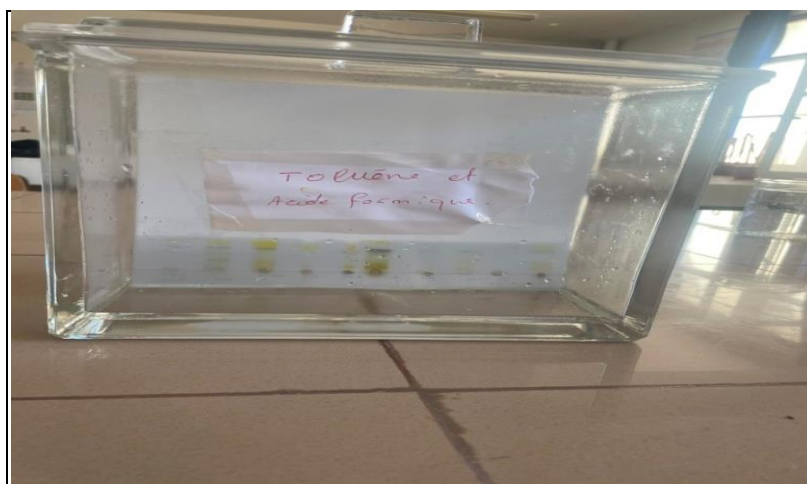


Figure 19: La 2em CCM réalisé avec du Toluène et l'acide formique (laboratoire biologie Mai 2023)

#### ❖ Préparation de la plaque chromatographique

-Nous avons tracée avec un crayon un trait de départ à 2cm au bas de la plaque

-Sur ce trait on a tracé des petits points à 1cm de distance où les taches seront déposées

-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 40min, 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 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.

**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 lichénique obtenus par l'acétone et l'hexane, nous les ajoute des réactifs cristallogènes après les avoir préparé.

**3 .5.a-La préparation des réactifs cristallogènes****❖ 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.

### 3.6-Calcul du rendement

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

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.

### 3.7-Dosage des polyphénols totaux

On cherche à déterminer la concentration Cx de la solution lichénique. Le dosage par étalonnage va s'appuyer sur une caractéristique physique de cette solution : par exemple sa conductivité pour une solution ionique ou son absorbance pour une solution colorée.

La détermination des concentrations de l'extrait brut est effectuée à l'aide de la méthode de Folin-Ciocalteu dilué à l'aide.

#### ❖ Principe

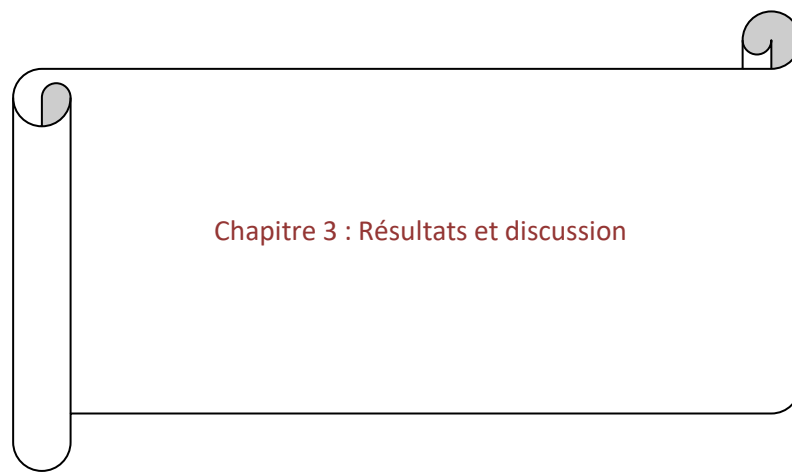
Un volume de 200µl de chaque extrait (dilué au 1/50ème) dans le méthanol) est introduit dans un tube à essai, 1ml de réactif Folin-Ciocalteu (dilué au 1/10ème dans l'eau distillé) y est additionné.

Après incubation de 5min à température ambiante, 100µl de solution aqueuse de carbonate de sodium de 7,5% sont ajoutées.

La solution finale est mélangée et conservée à l'obscurité pendant 30min dans un bain marie. L'absorbance est mesurée à 765nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme standard à différentes concentrations (0.5/1/2/3/4/5/6/8µg/ml).

La concentration des poly phénols totaux est exprimée en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme en matière végétale sèche.



**1-L'activité bio-insecticide de la poudre lichénique d'*Anaptychia ciliaris***

Les résultats obtenus après la mise en contact des insectes (*Tribolium confusum* L.), avec la poudre lichénique de *Anaptychia ciliaris* après différentes heures d'exposition allant de 24h jusqu'à 240 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	192h	216h
Le nombre	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Le pourcentage de mortalité	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

**Tableau 2**: les résultats obtenus pour la dose 4g

Les heures	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h	192h	216h
Le nombre	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Le pourcentage de mortalité	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	5%

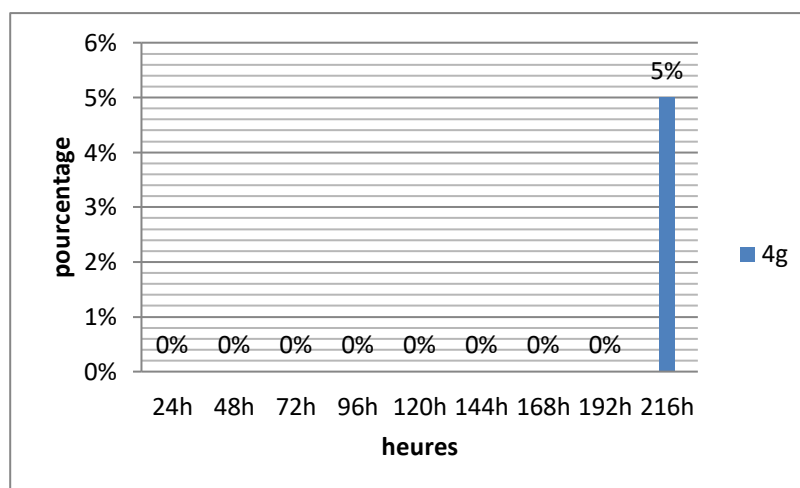


Figure 20 : Histogramme de taux de mortalité en % en fonction de temps pour la dose 4g

Durant les 192h nous n'avons enregistré aucune mortalité, mais au bout des 216h nous avons constatés une augmentation dans le nombre de mortalité, elle arrive au maximum dans les 216h « 5 % ».

**Tableau 3:** le taux de mortalité en % pour la dose 6g.

Les heures	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h	192h	216h
Le nombre	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Le pourcentage de mortalité	0%	0%	0%	0%	0%	0%	5%	0%	5%

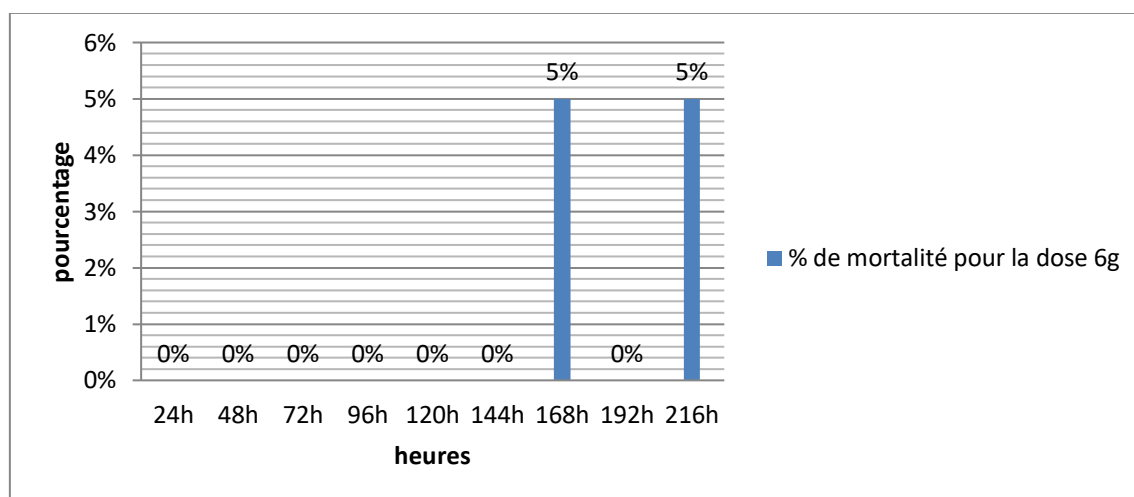


Figure 21 : Histogramme de taux de mortalité en % pour la dose 6g en fonction de temps (heures).

**Tableau4 :** résultats obtenus pour la dose 8g

Les heures	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h	192h	216h
Le nombre	0	0	0	0	0	1	1	1	2
Le pourcentage de mortalités	0%	0%	0%	0%	0%	5%	5%	5%	10%

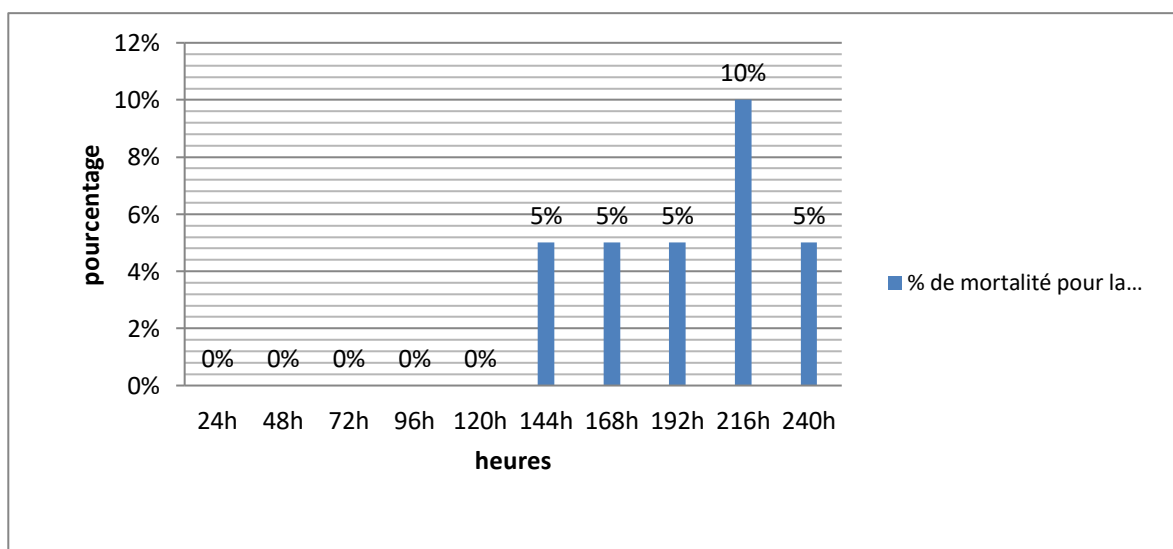


Figure22 : Histogramme de taux de mortalités en % pour la dose 8g en fonction de temps.

Le taux de mortalité on le constate après les 120h, et le maximum est au bout de 216h il atteint 10%.

**Tableau5** : les résultats obtenus pour la dose 12g.

Les heures	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h	192h	216h
Le nombre	0	0	0	0	1	1	3	2	1
Le pourcentage de mortalités	0%	0%	0%	0%	0%	5%	15%	10%	5%

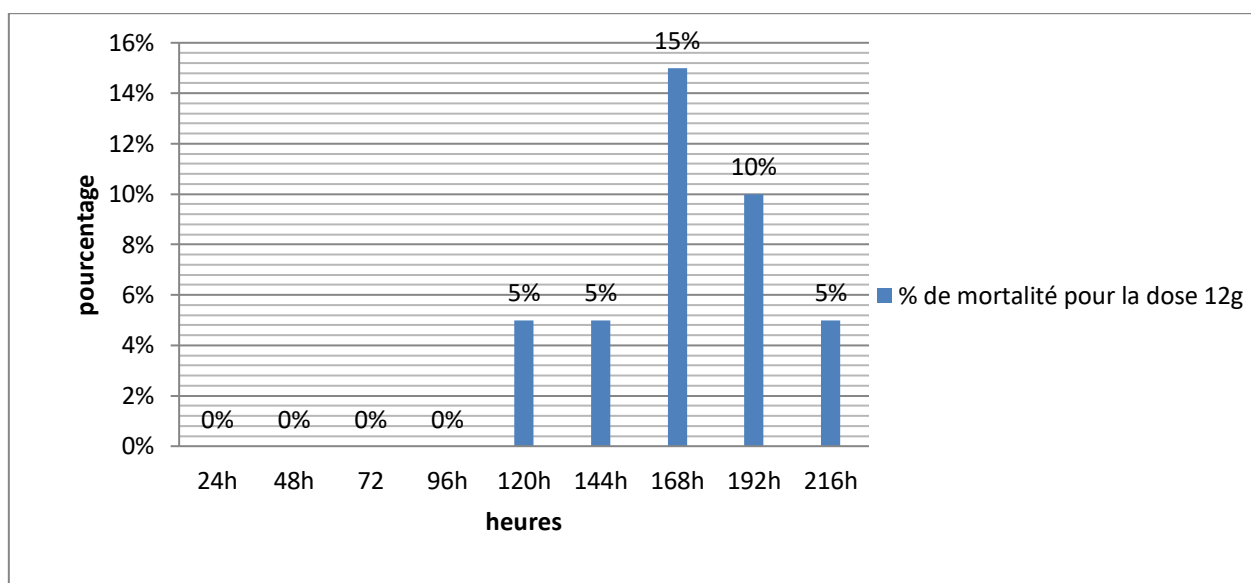


Figure23 : Histogramme de taux de mortalité en pourcentage pour la dose 12g en fonction de temps.

Durant les 96h nous n'avons enregistré aucune mortalité, mais au bout des 120h nous avons constatés une augmentation dans le nombre de mortalité, elle arrive au maximum dans les 168h « 14% » ensuite, une diminution jusqu'a 4% durant dans 216h

**Tableau 6:** tableau global pour les cinq doses.

Heures	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h	192h	216h
Témoin 0g	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Dose 4g	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	1%
Dose 6g	0%	0%	0%	0%	0%	0%	1%	0%	1%
Dose 8g	0%	0%	0%	0%	0%	1%	1%	1%	2%
Dose 12g	0%	0%	0%	0%	1%	1%	3%	2%	1%

**Tableau7** : tableau globale de taux de mortalité en pourcentage pour les cinq doses

Heures	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h	192h	216h
Témoin 0g	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Dose 4g	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	5%
Dose 6g	0%	0%	0%	0%	0%	0%	5%	0%	5%
Dose 8g	0%	0%	0%	0%	0%	5%	5%	5%	10%
Dose 12g	0%	0%	0%	0%	5%	5%	15%	10%	5%

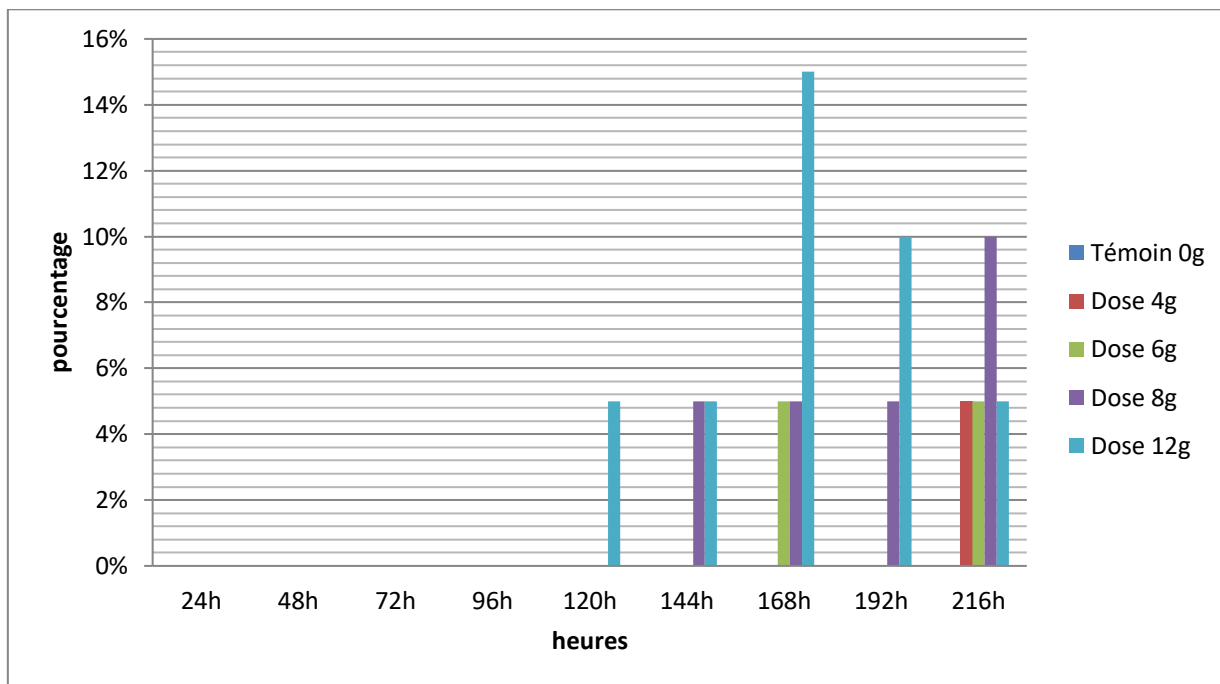


Figure24 : Histogramme de taux de mortalité en pourcentage en fonction du temps pour les cinq doses

### 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 *Anaptychia ciliaris*



Figure 25 : Profil chromatographique en solvant (laboratoire Ummto 2023)

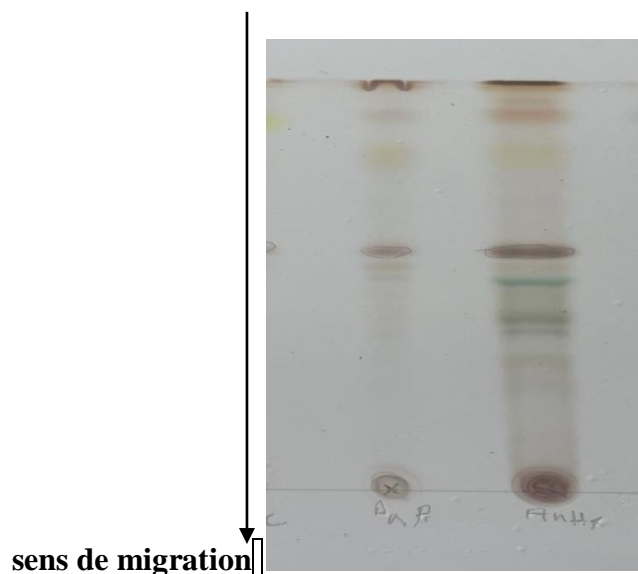


Figure 26 : Profil chromatographique en phase (laboratoire ummto 2023)

**Tableau 8** :résultats de migration des substances lichéniques pour le 1er profil chromatographique.

Extrait lichénique avec l'hexane		
RF	La couleur	La substance correspondante
0,66	Marron foncé	Acide évernique

❖ Calcule du rapport frontal

$$RF = d/D$$

$$RF = 4/6$$

$$RF = 0,66$$

### 3-Résultats de la microcristallisation

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

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 GE	<i>Anaptychia ciliaris</i>
Acide évernique	 A light micrograph showing a single, prominent star-shaped microcrystal of evernic acid. The crystal has a central point with several radiating, needle-like or plate-like structures. It is surrounded by other smaller, less distinct crystals and some cellular debris. An arrow points from the text 'Acide évernique' to this specific crystal.
Molécules d'acide évernique Sous forme des fleurs	 A light micrograph showing a cluster of multiple star-shaped microcrystals of evernic acid. The crystals are arranged in a somewhat linear fashion, with some overlapping. Each crystal exhibits the characteristic star-like morphology with radiating arms. An arrow points from the text 'Molécules d'acide évernique Sous forme des fleurs' to this cluster.

Figure 27: Résultats de la microcristallisation avec le réactif cristallogène GE grossissement 40\*100

#### 4-Calcul du rendement

Les résultats du rendement d'extraction acétonique sont exprimés en % de l'extrait lichénique *d'Anaptychia ciliaris*.

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

$$\text{RE}\% = \frac{\text{poids finale}}{\text{Poids initial}} * 100$$

Dose	Rendement
4g	35%
12g	65%

Tableau 09 : Rendement de l'extrait acétonique *Anaptychia ciliaris*

#### 5-Dosage des composés phénoliques totaux dans l'extrait lichénique *d'Anaptychia ciliaris*

La teneur en composés phénoliques obtenus à partir de l'extrait lichénique *Anaptychia ciliaris* à été estimée grâce à une courbe d'étalonnage réalisée par la méthode basé sur le réactif du Folin-Ciocalteu et l'acide gallique de 10% comme standard à différentes concentrations (0,5mg, 01mg, 02mg, 03mg, 04mg, 05mg, 06mg, 08mg ,10mg, 12mg/ ml). Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme de matière sèche ( $\mu\text{g E.A.G/mg ES}$ )

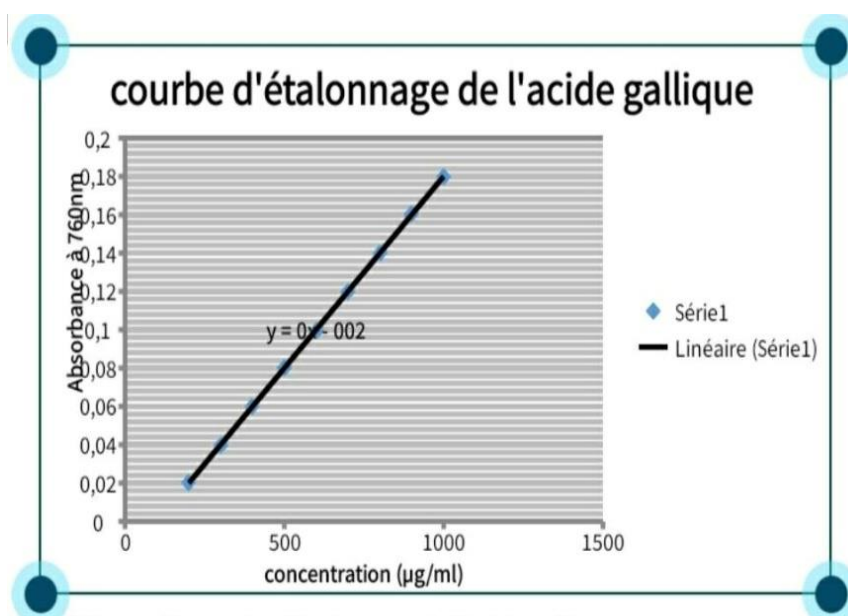


Figure 28 : La courbe d'étalonnage d'acide gallique

**Tableau10:** Résultats de la teneur en composés phénoliques totaux de l'extrait lichénique d'*Anaptychia ciliaris*

	Dose	absorbance	Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )
1er essai	4g	0,07	450
	12g	0,13	750
2em essai	4g	0,09	550
	12g	0,14	800
3em essai	4g	0,11	650
	12g	0,15	850

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

Nous avons comparé le taux de mortalité obtenus pour chaque dose (4g et 12g) exprimées en heures.

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

Nous avons appliqué le test de kruskal walis, la p-value obtenue est comparée à un seuil de signification  $\alpha = 0,05$

Nous avons vérifié s'il y avait une différence statistiquement significative entre l'efficacité des différences des différentes doses de la poudre lichénique testé sur le *Tribolium confusum*.

**Tableau 11 :** Tableau de concentration de 3 essais de l'extrait d'*Anaptychia ciliaris*

Dose	Concentration	Moyenne	écart-type	Variance	coefficient de corrélation
4g	450	550	100	10000	0,4102
4g	550				
4g	650				
12g	750	800	50	2500	0,0168
12g	800				
12g	850				

**Tableau 12 :** le taux de mortalité pour la dose 4g

Heures	nombre	MOYENNE	ECART-TYPE	variance	Coefficient de corrélations
24H	0	%0	%0	0%	0
48H	0				
72H	0				
96H	0				
120H	0				
144H	0				
168H	0				
192H	0				
216H	0				

**Tableau 13 :** le taux de mortalité pour la dose 12g

Heures	nombre	MOYENNE	ECART-TYPE	variance	Coefficient de corrélation
24H	0	5,5555%	6,346477588%	40,27777778%	0,0032
48H	0				
72H	0				
96H	0				
120H	5				
144H	5				
168H	15				
192H	10				
216H	15				

**Discussion :**

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

Le taux de mortalité pour la dose 4g ne dépasse pas 5% au bout de 216h, cela signifie qu'une faible mortalité influence sur la mortalité de *T. Confusum*.

Les résultats du teste statistique kruskal walis nous a donné une p-value de 0,4102 qui est  $> à 0,05$  cela signifie que la dose 4g présente une faible influence sur la mortalité de *Tribolium confusum*.

Les résultats ont montré que l'effet de la poudre lichénique agit avec doses élevés dont les mortalités ont été constatées à partir de la dose 12g avec un taux de 5% qui a commencé au bout 120h et arrive à 15% au bout de 168h.

- Le taux de mortalité ne dépasse pas 15%. Le résultat du teste statistiques kruskal walis nous a donné une p-value= 0,0168 qui est  $< à 0,05$  cela signifie que la dose 12g présente un forte influence sur la mortalité de *T. Confusum*.
- Cela signifie qu'une forte influence sur la mortalité de *T. Confusum*.
  - Au fur et à mesure que la dose et la durée d'exposition augmentent le taux de mortalité augmente chez les grandes doses.
  - mais pas par rapport au témoin ou on n'a pas enregistré de mortalité.

La courbe d'étalonnage utilisant l'acide gallique comme standard a permis de calculer les concentrations des polyphenols totaux, exprimés en  $\mu\text{g}$  d'équivalent d'acide gallique/ml de matière végétale, dans 9 échantillons. La méthode de dosage des polyphenols totaux utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu.

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

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

- Constater que le composé majoritaire d'*Anaptychia ciliaris* est l'AC évernique.
- La microcristallisation a montré l'AC évernique sous forme des étoiles.

-L'extraction des substances avec de l'hexane nous a permis de comprendre que : la non coloration de la solution aqueuse signifie la non influence des composants de *A. ciliaris* ne sont pas influencés par le solvant apolaire l'hexane.

-Contrairement à l'acétone, ou on a constaté une coloration verte ce qui signifie l'influence du solvant polaire l'acétone sur les composants de *A. ciliaris*.

-Les composés présents dans les substances naturelles, notamment les terpènes, sont responsables de l'activité bio-insecticide. Ces métabolites secondaires auraient un effet répulsif à faible concentration et létal à forte concentration de ces bio-insecticides

### Conclusion

Ce présent travail vise la valorisation de substances naturelles en tant que bio-insecticide. Pour cela, nous nous sommes intéressés à l'utilisation de substances lichéniques d'un lichen *Anaptychia ciliaris* vis-à-vis d'un ravageur de blé.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

- ♣ La poudre d'*Anaptychia ciliaris* ne révèle pas d'effet bio-insecticide efficace vis-à-vis des adultes du charançon du blé (*Tribolium confusum*) puisque la mortalité moyenne de ces adultes n'a pas augmenté en fonction des doses testées et de temps d'exposition par rapport au témoin.
- ♣ Nous constatons que la dose 12g s'avère efficace puisque nous avons obtenu le plus grand pourcentage de mortalité.
- ♣ La CCM a bien révélé la présence d'une substance chimique qui est l'acide évernique. Cela a été confirmé par la microcristallisation qui nous a permis d'observer l'acide évernique sous forme des étoiles.
- ♣ Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits de notre espèce *Anaptychia ciliaris* démontre qu'il n'y a pas de corrélation entre les composants phénolique et l'activité bio-insecticide.
- ♣ Le teste statistique effectué sur les doses (4g et 12g) nous ont montrés que le taux de mortalité dépend de la forte dose testé sur les adultes de *T. Confusum* en fonction du temps.

-Les composés présents dans les substances naturelles, notamment les terpènes, sont responsables de l'activité bio-insecticide. Ces métabolites secondaires auraient un effet répulsif à faible concentration et létal à forte concentration de ces bio-insecticides.

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

**Résumé**

Les lichens sont des organismes composites résultant de l'association symbiotique entre deux partenaires : un champignon et une algue. Grâce à cette symbiose ils élaborent des substances lichéniques ou métabolites secondaires, molécules très complexes ayant plusieurs effets biologiques.

C'est dans ce contexte que nous sommes intéressés pour évaluer l'effet insecticide de l'espèce lichénique foliacée *Anaptychia ciliaris*, sur un ravageur de blé (*Tribolium confusum*).

Mots clés : lichens, CCM, acide évernique, *Anaptychia ciliaris*, *Tribolium confusum*.

**Abstract:**

Lichens are composite organisms resulting from the symbiotic association between two partners: a fungus and algae.

Thanks to this symbiosis they develop lichenic substances or secondary metabolites, very complex molecules having several biological effects.

It is in this context that we are interested in evaluating the insecticidal effect of the leaf lichen species, *Anaptychia ciliaris*, on a pest of cereal (*Tribolium confusum*).

Key words: Lichens, CCM, evernic acid, *Anaptychia ciliaris*, *Tribolium confusum*.

### Références bibliographiques

1. Alouache K et Slimane Z : 2021 /2022 Evaluation de l'effet bio-insecticide d'Evernia prunastri sur le charançon du riz (*Sitophilus oryzae*. L) : Thèse pour obtenir le master à l'université MOULOUD MAMMERI. Biotechnologie et valorisation des plantes.
2. VAN HALLUWYN et LEROND ,1993). Guide des lichens .Edition le chevalier
3. (Senever.1990). Organes portés par la face inférieure du thalle
4. TIEVANT, 2001. La morphologie des lichens :
5. G.CLAUZADE et C.ROUX ,1987) généralité sur les lichens et leurs déterminations Les Différentes types de thalles *Thalles crustacés*
6. Van HALLUWYN et LEROND, 1993). Les algues constituantes des lichens .
7. VAN MALUWYN, M.LEROND ,1993 Rapport cytologique des lichens
8. GORENFLOT et GUEREN, 1989). Rapport métabolique
9. BOUSTIE, 2011 La localisation des substances lichéniques
10. William H. Robinson, *Urban Insects and Arachnids: A Handbook of Urban Entomology*2005,
11. Duval, 1868 systématiques de *Tribolium Confusum*
12. Anonyme, 2001 Les dégâts causées par *T. Confusum*
13. Kirschbaum wirth, 1997 Description de l'espèce récoltée *Anaptychia ciliaris*
14. GAVERIAUX ,2003 La microcristallisation
15. Gaveriaux : jp (2008) lexique des principaux termes de ichnologies
16. Goga M. Co-evolutio ds metabolites secondaires
- 17 . Kirschbaum wirth, 1997 Les lichens , les bio-indicateurs : les reconnaitre, évaluer la qualité de l'air 2em edition Yugen Ulmer
18. KOUT M . CHIHEL A : Activité antibactérienne et caractéristiques phytochimiques des lichens issus de l'est algérien 2017 .2018 en vue de l'obtention du diplôme de MASTER Biochimie appliquée université des frères Mentouri Canstantine

**Liste des abréviations**

CCM: chromatographie sur couche mince

D: distance entre la ligne de dépôt et le front de solvant

d: distance entre le centre de cercle de molécule et le dépôt

% : pourcentage

g : gramme

h : heure

CCM : Chromatographie sur couche mince.

RE : Rendement d'extraction.

RF : Rapport frontal.

GAW : Glycérol-Ethanol-eau.

GE : Glycérol-Acide acétique glacial

µl : microgramme