

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2017

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV **Filière :** Sciences Biologiques
Spécialité : Science et Gestion de l'Environnement

Présenté par :

Melle DERDANE Dehia et Mme KHELIFI Sarah

Thème

*Evaluation biologique et phytochimique des métabolites
naturels de quelques espèces lichéniques du parc
national du Djurdjura*

Soutenu le : 02/ 07 / 2017

Devant le jury composé de :

<i>Mme AKKOUCHE Saïda</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Mr. LATRECHE Khaled</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Boumerdes</i>	<i>Promoteur</i>
<i>Mme. NEBHI-KARBACHE Fatima</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. De Bouira</i>	<i>Co-Promoteur</i>
<i>Mr. LAMINE Salim</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire : 2016/2017

Résumé

Cette étude dont nous exposons ici les principaux résultats, est une modeste contribution à l'avancée des connaissances sur les lichens du parc national du Djurdjura. Dans la première partie de ce travail, nous avons abordé la diversité lichénique du PND. Malgré la surface assez réduite de la réserve intégrale prospectée, nous avons pu mettre en évidence la présence de 22 espèces différentes, dont 19 ont été identifiées, soit environ 42.3% de la richesse lichéniques du parc mentionnée dans la bibliographie. Ces résultats montrent, clairement, que la richesse de cette réserve naturelle en espèces lichéniques est beaucoup plus élevée que le chiffre avancé, soit 52 espèces. Dans la deuxième partie, nous avons focalisé nos efforts sur l'étude des métabolites bioactives, extraits des lichens du parc, par différents solvants organiques. L'étude des activités biologiques des divers extraits lichéniques, montre que ces derniers peuvent, d'une part, limiter la croissance cellulaire de certaines bactéries et, d'autre part, stimuler la multiplication bactérienne des autres souches pathogènes de référence. Les analyses par GC/MS, utilisées pour évaluer la composition des extraits, révèlent aussi que la complexité des extraits de l'espèce *Xanthoria parietina* est peut-être sous-estimée par la littérature. Les profils chromatographiques nous ont permis d'identifier plusieurs composés obtenus par extraction dans les différents solvants organiques.

Mots clés : Lichens, parc national du Djurdjura, activité antimicrobienne, extraction, GC/MS

Remerciement

A l'issue de ce temps dense et précieux, passé au sein du Laboratoire d'écologie et environnement de BOUMDERDES, je tiens à remercier toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont permis la réalisation et l'aboutissement de ce mémoire.

- ✿ Nous adressons d'abord nos remerciements les plus sincères à notre promoteur Dr LATRECHE Khaled de nous avoir encadré, ainsi que pour les conseils, les orientations et le temps précieux qu'il nous a consacré afin de réaliser ce travail.
- ✿ Nous remercions aussi notre Co-promotrice Mme KARBACHE Fatima qui nous a aidé, encouragé et surtout pour ses précieux conseils riches en enseignement. Nous lui exprimons notre profonde reconnaissance.
- ✿ Nous souhaitons remercier également chacun des membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail. Merci d'une part à Mme AKKOUCHE Saida d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire et d'autre part à Mr LAMINE Salim de nous avoir fait l'honneur d'être examinateur.
- ✿ Nos sincères remerciements vont à tout le personnel du Parc National du Djurdjura et particulièrement à Mr MERIBAI Yousef, directeur de PND, qui nous a donné accès au parc ; ainsi qu'à Mr HADDAD Moussa, qui nous a, si gentiment, aidé à faire des prélèvements sur terrain.
- ✿ Nous voudrions aussi exprimer notre sincère gratitude à Mr AMGAR F. (responsable de la filière d'écologie et environnement à l'UMBB), et Mme LONDJA (ingénieur de laboratoire d'écologie) de nous avoir donné accès au labo et aidé dans les manipulations.

KHELIFI Sarah & DERDANE Dehia



KHELIFI Sarah

Avec beaucoup d'amour, de tendresse et en douceur
Je dédie ce travail

A mes parents

*Qui ont toujours été présents
et qui m'ont permis de réaliser
Tout ce que je souhaitais
A mes yeux, vous êtes
Des soutiens sans faille*

A mon très cher trésor Khaled

愛

A toute ma famille

*En l'occurrence, mes frère et sœurs :
Samir, Amina, Abdelkrim, Younes, Mohammed et Fazia,*

A mes neveux et nièces

*Yassir, Akram, Saifeddine et Meriem
Vous tous la source de ma fierté*

A toutes mes amies

avec qui j'ai partagé les plus beaux moments de ma vie

Merci



JE DIDIE CE MEMOIRE ... ?

A mon cher père

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A ma très chère mère

Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

Mon frère « Massi » et ma sœur « Thelali »

les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous.

Je n'oublie pas mon ange « Celina »

Pour sa tendresse, malgré qu'elle est petite.

A mon âme sœur « F. »

Pour ton soutien moral et matériel, ta gentillesse sans égal, aussi ta complicité et ta présence malgré la distance qui nous sépare.

A mes belles amies

Hassiba le groupe MWAZIS « salwa silia, zineb ,mamal ,mariem ,malika » .Vous avez toujours été présentes pour les bons conseils .Votre affection et votre soutien m'ont été d'un grand secours au long de ma vie professionnelle et personnelle .

A tous les membres de famille

Voulez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection.

DERDANE Dehia

Sommaire

Introduction	1
Chapitre I. Synthèse bibliographique	2
1. Historique des lichens	2
2. Biologie des Lichens	2
2.1. Définition d'un lichen	2
2.2. Les deux partenaires	3
2.2.1. <i>Le Partenaire fongique</i>	3
2.2.2. <i>Le partenaire algale</i>	3
2.3. Nutrition et relation biochimique	3
2.4. Relation cytologique	4
3. Morphologie et anatomie des lichens	4
3.1. Anatomie et structure des thalles des lichens	4
3.1.1. <i>La structure homéomère</i>	4
3.1.2. <i>La structure hétéromère</i>	4
3.2. Différentes morphologies de thalles	6
3.2.1. Thalles crustacés	6
3.2.2. Thalles foliacés	6
3.2.3. Thalles fruticuleux	6
3.2.4. Thalle squamuleux	6
3.2.5. Thalle gélatineux	6
3.2.6. Thalle composite	6
3.2.7. Thalle filamenteux	6
3.2.8. Thalle lépreux	6
3.3. Organes permettant l'identification d'un thalle.....	8
4. Reproduction et développement des lichens.....	10
4.1. La Reproduction	10
4.1.1. Reproduction Sexuée (champignon seul)	10
4.1.2. Reproduction Asexuée (algue associée au champignon)	10
4.2. La croissance et développement du thalle	11
5. L'écologie des lichens	11
5.1. L'eau :	11
5.2. La lumière	11
5.3. La température	11
5.4. Autres facteurs atmosphériques	12
5.5. Les facteurs liés au substratum	12
5.6. Les facteurs biotiques.....	12
6. La Diversité lichénique	12
7. Intérêts pratiques des lichens.....	13
7.1. Usages alimentaires	13
7.2. Usages industriels	13
7.3. Usages en bio-indication	13
7.4. Usages Médicinaux	13
8. Les Métabolites secondaires lichéniques	14
8.1. Voies de biogenèse des métabolites secondaires	14
8.2. Métabolites secondaires appartenant aux voies principales de biogenèse	14

Chapitre II. Matériels et méthodes	16
1. Description de la région d'étude	16
2. Echantillonnages des lichens	18
3. Identification des espèces	19
4. Extraction des métabolites lichéniques	20
5. Test d'efficacité antimicrobienne	20
5.1. Les Microorganismes de références	20
5.2. Préparation de l'inoculum et ajustement de la turbidité	21
5.3. Tests d'efficacité sur milieu gélosé (La technique de diffusion standard)	21
5.4. Tests d'efficacité sur milieu liquide	21
6. Analyses par Chromatographie gaz couplée à la spectrométrie de masse (CG/MS)... ..	24
6.1. Principes du couplage GC/MS	24
6.2. Appareillage et paramètres d'acquisitions	24
7. Test de significativité	25
Chapitre III. Résultats et discussion	26
1. Résultats	26
1.1. Identification des espèces	26
1.1.1. Espèce N°1. <i>Pseudovernia furfuracia</i>	26
1.1.2. Espèce N°3. <i>Lobaria virens</i>	31
1.1.3. Espèce N°5. <i>Lepraria</i> sp	31
1.1.4. Espèce N°7. <i>Platismatia glauca</i>	34
1.1.5. Espèce N°10. <i>Xanthoria parietina</i>	36
1.1.6. Espèce N°18. Lichen non identifié	38
1.2. Etude de l'activité antimicrobienne des extraits lichéniques	39
1.2.1. Efficacité des extraits sur milieu gélosé (technique de diffusion standard)	39
1.2.1.1. Les extraits acétoniques	39
1.2.1.2. Les extraits de l'éther de pétrole	39
1.2.1.3. Les extraits de l'éther diéthylique	40
1.2.1.4. Les extraits éthanoliques	40
1.2.2. Efficacité des extraits lichéniques sur milieu liquide	45
1.2.2.1. Activité biologique de l'espèce <i>Pseudovernia furfuracea</i>	45
1.2.2.2. Activité biologique de l'espèce <i>Lobaria virens</i>	48
1.2.2.3. Activité biologique de l'espèce <i>Lepraria</i> sp.....	51
1.2.2.4. Activité biologique de l'espèce <i>Palatismatia glauca</i>	52
1.2.2.5. Activité biologique de l'espèce <i>Xanthoria parietina</i> ,.....	55
1.2.2.6. Activité biologique de l'espèce non identifié N°18	58
1.3. Caractérisation photochimique de <i>Xanthoria parietina</i>	61
1.3.1. Screening phytochimique de l'extrait éthanolique	61
1.3.2. Screening phytochimique de l'extrait acétonique	61
2. Discussion	67
Conclusion et Perspectives	69
Références bibliographiques	70

Liste des figures

☀ Figure 1. Vue microscopique d'une coupe longitudinale d'un lichen crustacé	3
☀ Figure 2. Structure d'un haustorium	4
☀ Figure 3 : Structures anatomiques des différents thalles des lichens	5
☀ Figure 4. Les différentes morphologies des thalles	7
☀ Figure 5. Principaux organes de structure de fixation et de reproduction rencontrés chez les lichens	8
☀ Figure 6. Les organes de l'identification des thalles des lichens	9
☀ Figure 7. Représentation des organes de reproduction sexuée chez les lichens	10
☀ Figure 8. Les différentes voies de biosynthèse des métabolites secondaires lichéniques...	15
☀ Figure 9. Situation géographique du PND	17
☀ Figure 10 : Collecte des échantillons lichéniques sur terrain	18
☀ Figure 11. Les différentes souches bactériennes de référence utilisées ainsi que le dispositif de mesure des zones d'inhibition	20
☀ Figure 12. Les zones d'inhibitions obtenues par la technique de diffusion standard	21
☀ Figure 13. Schéma récapitulatif des tests d'efficacité antimicrobienne sur milieu solide et liquide.....	22
☀ Figure 14. Quelques étapes lors de la réalisation des tests d'efficacité sur bouillon nutritif.....	23
☀ Figure 15. Appareillage utilisé en chromatographie en phase gazeuse.....	25
☀ Figure 16. Liste des différentes espèces de lichen échantillonnées dans le parc national de Djurdjura	29
☀ Figure 17. <i>Pseudovernia furfuracea</i> . A) Aspect morphologique du thalle. B) Tests chimiques.....	30
☀ Figure 18. <i>Lobaria virens</i> (With.). A) Aspect morphologique du thalle. B) Tests chimiques	32
☀ Figure 19. <i>Lepraria sp</i> (espèce n°5) : Aspect macroscopique (A) et microscopique du thalle (B).....	33
☀ Figure 20. <i>Platismatia glauca</i> . A) Aspect morphologique du thalle. B) Tests chimiques...	35
☀ Figure 21. . Tests chimiques du thalle de <i>Xanthoria parietina</i>	36
☀ Figure 22. Aspect morphologique (examen macro et microscopique) du thalle de <i>Xanthoria parietina</i>	37
☀ Figure 23. Aspect morphologique du thalle de l'espèce non identifié n°18.	38
☀ Figure 24. Taux de stimulation et d'inhibition de la croissance bactérienne par les extraits de l'espèce <i>Pseudovernia furfuracea</i>	46
☀ Figure 25. Sensibilité des sept souches bactériennes de référence aux extraits de l'espèce <i>Pseudovernia furfuracea</i>	47
☀ Figure 26. Taux de stimulation et d'inhibition de la croissance bactérienne par les extraits de l'espèce <i>Lobaria virens</i>	49
☀ Figure 27. Sensibilité des sept souches bactériennes de référence aux extraits de l'espèce <i>Lobaria virens</i>	50
☀ Figure 28. Taux de stimulation et d'inhibition de la croissance bactérienne par l'extrait acétonique de l'espèce <i>Lepraria sp</i>	51
☀ Figure 29. Sensibilité des sept souches bactériennes de référence à l'extrait acétonique de l'espèce <i>Lepraria sp</i>	51
☀ Figure 30. Taux de stimulation et d'inhibition de la croissance bactérienne par les extraits de l'espèce <i>Cetraria glauca</i>	53

❁ Figure 31. Sensibilité des sept souches bactériennes de référence aux extraits de l'espèce <i>Cetraria glauca</i>	54
❁ Figure 32. Taux de stimulation et d'inhibition de la croissance bactérienne par les extraits de l'espèce <i>Xanthoria parietina</i>	56
❁ Figure 33. Sensibilité des sept souches bactériennes de référence aux extraits de l'espèce <i>Xanthoria parietina</i>	57
❁ Figure 34. Taux de stimulation et d'inhibition de la croissance bactérienne par les extraits de l'espèce N°18.....	59
❁ Figure 35. Sensibilité des sept souches bactériennes de référence aux extraits de l'espèce n°18.....	60
❁ Figure 36. Profil Chromatographique des métabolites secondaires obtenus par extraction éthanolique.....	62
❁ Figure 37. Profil Chromatographique des métabolites secondaires obtenus par extraction des extraits acétonique.....	63
❁ Figure 38. Comparaison des profils chromatographiques des deux extraits éthanolique (A) et acétonique (B). C) spectre de masse de la parietine.....	64

Liste des tableaux

❁ Tableau 01. Les Classes des métabolites secondaires chez les lichens	15
❁ Tableau 02. Les réactions chimiques de certains métabolites secondaires présents dans les lichens	19
❁ Tableau 03. Zones d'inhibition de la croissance bactérienne obtenues sur gélose par les extraits acétoniques des différentes espèces lichéniques	41
❁ Tableau 04. Zones d'inhibition de la croissance bactérienne obtenues sur gélose par les extraits de l'Ether de pétrole des différentes espèces lichéniques	42
❁ Tableau 05. Zones d'inhibition de la croissance bactérienne obtenues sur gélose par les extraits de l'Ether diéthylique des différentes espèces lichéniques	43
❁ Tableau 06. Zones d'inhibition de la croissance bactérienne obtenues sur gélose par les extraits éthanoliques des différentes espèces lichéniques	44

Introduction

Introduction

Les lichens sont des organismes symbiotiques résultant de l'association entre un champignon appelé « mycobionte » et un ou plusieurs partenaires photosynthétiques dits « photobiontes ». Chacun des deux partenaires tient un rôle important dans la survie de l'autre. Le champignon fournit, à l'algue ou à la cyanobactérie, une protection contre les aléas de l'environnement ainsi que les sels minéraux, l'eau et les antibiotiques nécessaires à leur bon développement. En revanche, l'algue ou la cyanobactérie, quant à elle, par son activité photosynthétique, va fournir au champignon la matière organique (entre autres les glucides) nécessaire à son existence. La science moderne, a révélé que les lichens produisent également une large variété de composés secondaires spécifiques dont le nombre ne cesse de croître. Dans la dernière compilation réalisée par Huneck en 1996 et en 2001 (Huneck, 2001 ; Huneck et Yoshimura, 1996), on en comptait 800 et actuellement, le nombre de métabolites lichéniques identifiés avoisinerait les 1050 (Stocker-Wörgötter, 2008), cependant beaucoup d'autres restent à identifier. Certains de ces métabolites, semblent avoir une action antibiotique avérée alors que d'autres ont des propriétés antitumorales et inhibitrices de la réplication du virus du Sida.

La problématique de la résistance aux antibiotiques rappelle cependant qu'il est important de trouver de nouvelles molécules possédant une activité antibactérienne. Par conséquent, nous pensons qu'il serait intéressant de réaliser un criblage des différentes espèces de lichens contre un groupe de microorganismes résistants et récemment isolés d'infections humaines dans le but de trouver de nouvelles substances auxquels ces germes sont sensibles.

Les travaux de criblage sont poursuivis selon les méthodes les plus couramment employées dans ce domaine. Ils consistent à tester et trier les extraits lichéniques contre les bactéries pathogènes, avant de passer à l'identification et à l'extraction des principes actifs. La démarche suivie pour la réalisation de ce travail se résume, dans nos conditions, aux étapes suivantes :

1. Echantillonnage des lichens à propriétés antibactériennes éventuelles.
2. Identification des espèces ayant fait l'objet de choix
3. Extraction des métabolites secondaires par quatre solvants différents
4. Étudier leurs activités antimicrobiennes par différents tests microbiologiques, en utilisant plusieurs espèces de microbes pathogènes.
5. Faire un screening phytochimique des extraits lichéniques par une technique d'identification de pointe, à savoir la chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS), afin de mettre en évidence les principes actifs.

Le présent manuscrit est structuré en trois grands chapitres. Après l'introduction générale, le premier chapitre présentera une synthèse bibliographique donnant des notions générales sur les lichens et leurs caractéristiques. Le second chapitre sera réservé à la partie expérimentale qui décrit les méthodes et les différents protocoles utilisés dans cette étude. Quant au dernier chapitre, il récapitulera les différents résultats obtenus et les discussions qui en ont découlé. Et enfin, nous terminerons ce travail par une conclusion générale qui résume les principaux résultats obtenus et qui présente les perspectives de travail.

Chapitre I

Synthèse Bibliographique

1. Historique des lichens

Le terme lichen est d'origine grec « leikhen » qui veut dire « lécher » ceci à cause de son thalle appliqué sur le support, comme s'il le léchait. Il fut employé pour désigner une plante, la première fois au IV^{ème} siècle avant J-C par Theophraste (Boullard, 1990). Ces végétaux si petits n'ont intrigué et éveillé la curiosité des naturalistes qu'à partir du XVII^{ème} siècle. Tournefort le premier, en 1694 et 1698, distingua les lichens des mousses. Seulement, sa définition resta imparfaite puisque se trouvaient parmi ces lichens une hépatique, une mousse et une fougère. Par la suite vint Michel en 1729, qui s'intéressa aux organes que porte le thalle lichénique à savoir les apothécies et les sorédies qu'il considéra comme des réceptacles floraux pour les premiers et graines pour les seconds (Mosbah, 2007). En 1741, Dillenius décrit les lichens, en les classant selon la morphologie du thalle. A la même époque et quelques années plus tard, Linné en 1753 commença à désigner les lichens par un binôme latin tout en les classant parmi les algues. C'est avec Acharius que naît vraiment la lichénologie. En effet entre 1798 et 1814, ses travaux permettent de distinguer les lichens des autres cryptogames. Sa classification se basait non seulement sur la morphologie des thalles, mais aussi sur les apothécies et sorédies, reconnues comme organes de reproduction (Mosbah, 2007). A partir de 1868, Schwendener admit la double nature des lichens et l'existence d'une relation d'antagonisme entre le champignon et l'algue. Depuis lors les lichens sont reconnus comme des organismes doubles qui résultent d'une union symbiotique stable et indépendante entre une algue et un champignon. La systématique moderne les classe dans le phylum des *Fungi* car seul le mycobionte assure la reproduction sexuée.

2. Biologie des Lichens

2.1. Définition d'un lichen

Un lichen est une association symbiotique réciproque entre un partenaire fongique et une population d'algues ou de cyanobactéries unicellulaires ou filamenteuses. L'élément fongique du lichen est appelé mycobionte (du grec mykes « champignon » et bios « vie ») et l'élément photosynthétique est le photobionte (photo « lumière » et bios « vie ») (Raven *et al.*, 2003). Les lichens sont dépourvus de tiges, de feuilles, de racines et de vaisseaux conduisant de la sève, donc ils ne sont pas vascularisés. Ils appartiennent au groupe végétal des thallophytes, qui comprend également les champignons (Goujon, 2004). Les lichens sont des thallophytes, leur appareil végétatif, constitué d'hyphes et de filaments ou de cellules chlorophylliennes, forment un thalle. Ce sont les hyphes qui sont à l'origine de la morphologie du thalle. Ils occupent 90% de la biomasse totale du lichen. L'association modifie considérablement la morphologie générale des partenaires, en culture pure le champignon forme un feutrage amorphe et les algues filamenteuses, sont sous forme unicellulaire dans le lichen (Le gac *et al.*, 2006). Leur vie autonome dépend directement de l'air de l'atmosphère pour leur apport en eau, en gaz (O₂, N₂ et CO₂) et en sels minéraux.

En symbiose, le champignon assure à l'algue un milieu humide et les sels minéraux nécessaires tandis que l'algue fournit au champignon les produits organiques par photosynthèse. Les lichens sont souvent connus dans les endroits qui sont trop durs ou n'ont pas assez de sol, y compris de hautes montagnes, les côtes rocheuses, déserts et plus près de la

maison, les troncs et les tiges des arbres et des arbustes, chemins d'asphalte, murs de roches, toits et même sur des substrats lisses et inertes tels que le verre d'une vieille serre (Johnson et Galloway, 1999).

2.2. Les deux partenaires

Les lichens sont généralement formés de deux partenaires aux relations étroites ; dans certains cas, cette association peut inclure trois espèces différentes. Les cellules algales sont entrelacées au sein des filaments du champignon (Figure 1). Au vu de la dominance du partenaire fongique, cette association est souvent considérée comme un champignon lichénisé (Le gac *et al.*, 2006).

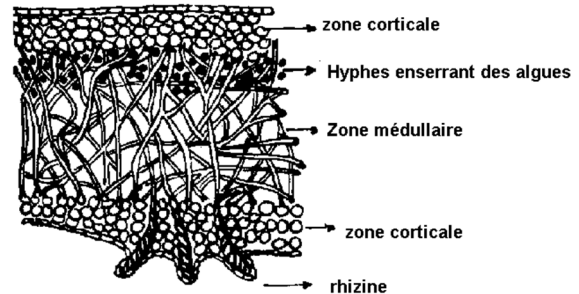


Figure 1. Vue microscopique d'une coupe longitudinale d'un lichen crustacé

2.2.1. Le Partenaire fongique (mycobionte ou mycosymbiote) :

Il est assuré en majorité par un Ascomycète (99 % des lichens) comme les anciennes familles des Pyrénomycètes ou des Discomycètes : dans ce cas, il est question d'ascolichen. Le dernier pourcent restant correspond aux associations faisant intervenir un Basidiomycète avec une trentaine d'espèces lichéniques majoritairement tropicales : il s'agit des basidiolichens. Les cellules du champignon, appelées hyphes, sont longiformes à paroi mince et présentent des cloisons transversales. Ces filaments sont plus ou moins ramifiés (Figure 1). Au niveau de la partie inférieure du thalle, on observe un entrelacement de filaments servant à fixer le lichen à un support, ce sont les rhizines.

2.2.2. Le partenaire algale (photobionte, photosymbiote ou phycosymbiote)

Il est assuré soit par une algue verte ou *Chlorophyceae* (chez 90 % des lichens : chlorolichens), soit par une cyanobactérie ou *Cyanophyceae* (chez 10 % des lichens : cyanolichens). Les cellules algales sont appelées gonidies (Figure 2). Les chlorolichens possèdent de la chlorophylle et des grains d'amidon ou des gouttelettes lipidiques de carotène, et sont représentés majoritairement par deux familles : les *Chloroccaceae* (*Trebouxia*) et les *Trentepohliaceae* (*Trentepohlia*). Pour les cyanolichens, la famille la plus présente est celle des *Nostocaceae* (*Nostoc*), présentant des cellules en forme de chapelets de coloration bleu-vert (chlorophylle et phycocyanine).

2.3. Nutrition et relation biochimique

La symbiose lichénique est basée sur la complémentarité des métabolismes entre l'algue autotrophe et le champignon hétérotrophe. La nutrition en carbone est donc réalisée par le photobionte, cédant au champignon l'excès de matière carbonée synthétisée sous forme d'hydrates de carbone solubles, ainsi que d'autres produits de la photosynthèse. En contrepartie de cet apport en carbone, le mycobionte fournit l'eau issue de l'air ambiant captée par la surface du thalle. Cette eau permet l'alimentation en sels minéraux (macro- et micronutriments), ainsi qu'en vitamines indispensables pour la croissance du photobionte. La nutrition azotée est en partie assurée par les particules et les solutions provenant de

l'atmosphère NH_4^+ rapidement converti en acides aminés et NO_3^- ou bien de N_2 atmosphérique uniquement chez les cyanolichens. Le substrat constitue une seconde source en azote organique, notamment *via* les excréments d'oiseaux (lichens ornithocrophiles).

2.4. Relation cytologique

Les lichens présentent d'étroites interactions au niveau cellulaire. Le champignon est capable de pénétrer directement dans le cytoplasme des cellules algales (pénétration intracellulaire) par le biais d'un haustorium (Figure 2). La paroi de l'algue est ainsi perforée, alors que sa membrane plasmique s'invagine pour former une poche autour du suçoir (1 à 5 par gonidie). Dans les formes lichéniques les plus complexes, l'invagination n'est pas obligatoire : un contact membranaire via un amincissement de la zone de contact peut suffire pour échanger les molécules par simple diffusion.

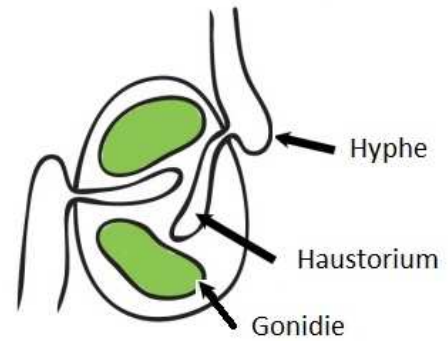


Figure 2. Structure d'un haustorium

3. Morphologie et anatomie des lichens

3.1. Anatomie et structure des thalles des lichens

Les thalles lichéniques décrivent deux grands types de structures anatomiques distincts basés sur l'organisation interne des deux partenaires, sans lien avec la taxonomie.

3.1.1. La structure homéomère :

Le thalle ne présente aucune organisation particulière (fig3.A), les cellules algales et mycéliennes sont réparties de façon homogène dans l'épaisseur du thalle, mêlées les unes aux autres. (Agnes flour, 2004).

3.1.2. La structure hétéromère

Lorsqu'une organisation interne permet de différencier des couches cellulaires, on parle de structure hétéromère. Dans cette catégorie, deux types de lichens formés de couches anatomiquement différentes, tantôt superposées (structure stratifiée), tantôt concentriques (structure radiée) peuvent être distingués.

- a. **Structure hétéromère stratifiée** : (Fig3.B) chez la plupart des thalles foliacés, chez un petit nombre de thalles fruticuleux principalement *Evernia prunastri* et chez quelques thalles crustacés, on observe, sur une coupe transversale, la succession suivante : cortex supérieur, couche gonidiale, médulle et cortex inférieur (Ozenda et Clauzade, 1970).
- b. **Structure hétéromère radiée** : (Fig3.C) chez la plupart des lichens fruticuleux, la couche gonidiale fait tout le tour de la section transversale, quelle que soit la forme, arrondie, aplatie ou irrégulière. La partie la plus interne de la médulle peut disparaître en grande partie comme chez les *Alectoria* dont le thalle est plus ou moins creux, ou au contraire être formée comme chez les *Usnea*, d'hyphes très serrés parallèles à l'axe et constituée un cordon axial (Ozenda et Clauzade, 1970).

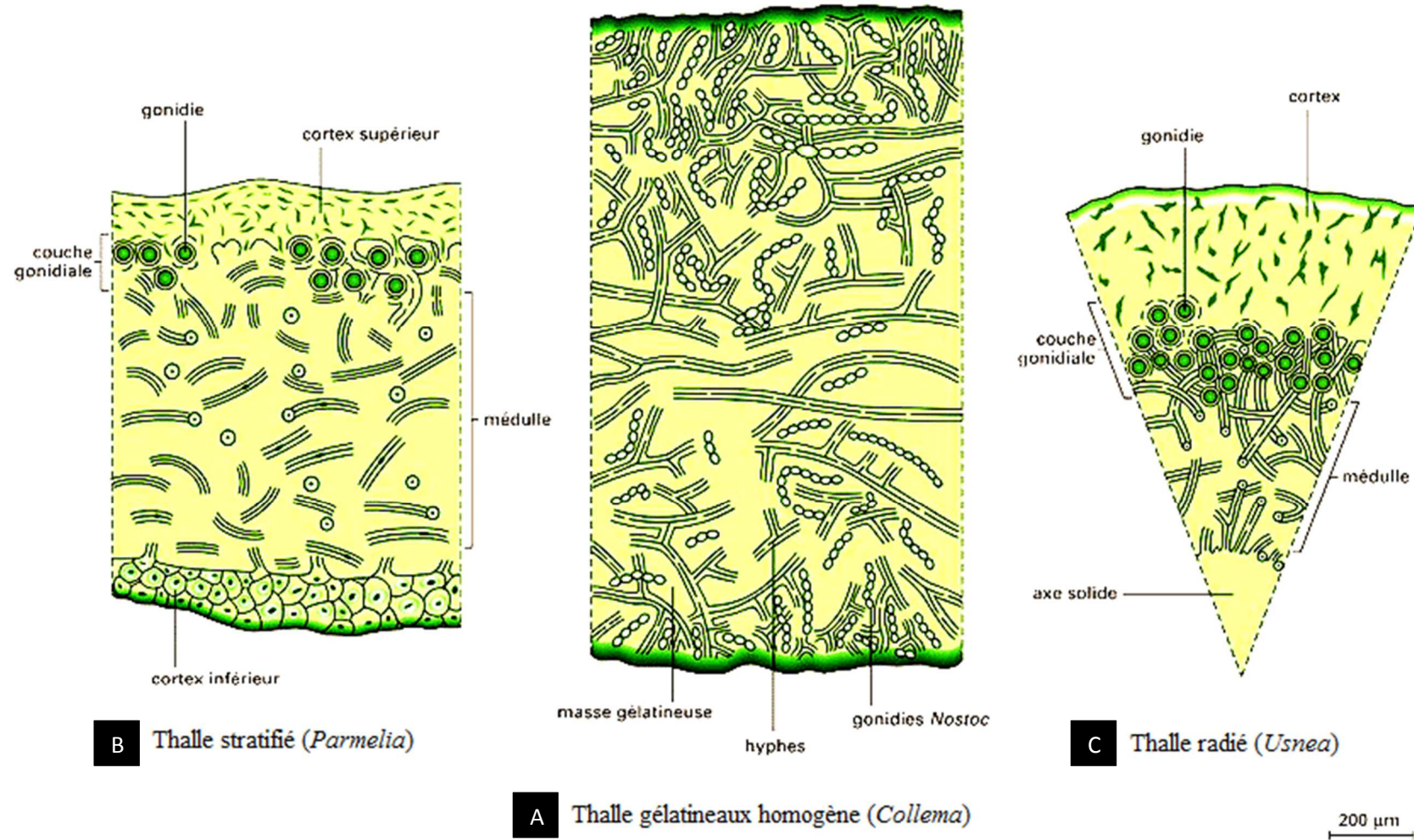


Figure 3 : Structures anatomiques des différents thalles des lichens

3.2. Différentes morphologies de thalles

Le thalle est l'appareil végétatif du lichen qui assure sa nutrition, sa survie et sa croissance. Selon Asta et Letrouit (1994), Ce sont les hyphes qui sont à l'origine de la morphologie du thalle. Ils occupent 90 % de La biomasse totale du lichen. La forme d'un lichen est donc déterminée par le champignon, qui forme un tissu compact et filamenteux enveloppant d'innombrables algues unicellulaires appelées gonidies (Goujon, 2004). Selon la forme, on distingue divers types de thalle ; les 3 principaux sont : les thalles crustacés, foliacés et fruticuleux.

3.2.1. Thalles crustacés : Le thalle crustacé est de loin le plus répandu et correspond à des croûtes que le lichen forme sur son substrat. Ces croûtes peuvent en effet être difficilement séparées de celui-ci sans être endommagées. Elles peuvent être bien délimitées à la périphérie ou non et être distinctement lobées (thalle placodiomorphe) (Fig4.A) ; leur surface peut être continue, fendillée ou nettement fragmentée en petites aréoles (Serusiaux *et al.*, 2004).

3.2.2. Thalles foliacés : Les thalles foliacés (Fig4.B) ressemblent à des feuilles, ils sont aplatis et pourvus d'un cortex supérieur et inférieur (Trevor, 1994). Ce sont des Thalles étalés sur le substrat, ils sont généralement fixés à celui-ci par de petits crampons ou rhizines. Les uns, dits thalles ombiliqués, adhèrent au support par une surface réduite à peu près centrale et sont surtout caractéristiques du genre *Umbilicaria* et certaines *Dermatocarpon*. Les autres non ombiliqués, adhèrent au support par la plus grande partie de leur surface, le plus souvent grâce à des rhizines. Ils sont beaucoup plus rependus que les précédents, la plupart sont en forme de rosette, comme ceux de la majorité des *Parmelia*, *xanthoria* et *physcia* (Ozenda et Clauzade, 1970).

3.2.3. Thalles fruticuleux : Ils sont représentés en lanières plates attachées uniquement par leur extrémité (Agnes Flour, 2004). Selon Ozenda et Clauzade (1970), les thalles fruticuleux (Fig4.C) sont répartis en deux groupes :

- Thalles en forme de tiges cylindriques plus ou moins ramifiés comme *Usnea*.
- Thalles en forme de lanières tel que : *Evernia*, *Ramalina*.

3.2.4. Thalle squamuleux : Le terme « squamuleux » fait référence aux squamules, écailles de plus de 1,5 mm constituant le thalle (Fig 4.D). Elles sont plus ou moins imbriquées les unes aux autres et peuvent être fortement fixées sur le substrat (Tievan, 2001).

3.2.5. Thalle gélatineux : Les lichens gélatineux possèdent une structure interne homéomère dont le partenaire algal est une cyanobactérie (Fig4.E). Ils peuvent présenter diverses formes (glomérules, minuscules touffes ou lames foliacées) semblables aux colonies cyanobactériennes de type *Nostoc*. À l'état sec, ils ne sont pas très visibles (noirâtres et racornis) avec une forte capacité de reviviscence. À l'état humide, ils forment des masses lobées vert glauque (Ait Hammou, 2015).

3.2.6. Thalle composite : Le thalle composite combine le type foliacé ou squamuleux et le type fruticuleux (Fig4.F). Un thalle primaire plus ou moins adhérent et un thalle secondaire fruticuleux dressé (Tievan, 2001).

3.2.7. Thalle filamenteux : Le thalle filamenteux est formé par des filaments très fins, enchevêtrés, le feutrage de tiges fines adhérent au substrat (Tievan, 2001).

3.2.8. Thalle lépreux : Le thalle est constitué d'un ensemble de granules formés chacun de filaments mycéliens associés à quelques pleurocoques (Fig4.G).

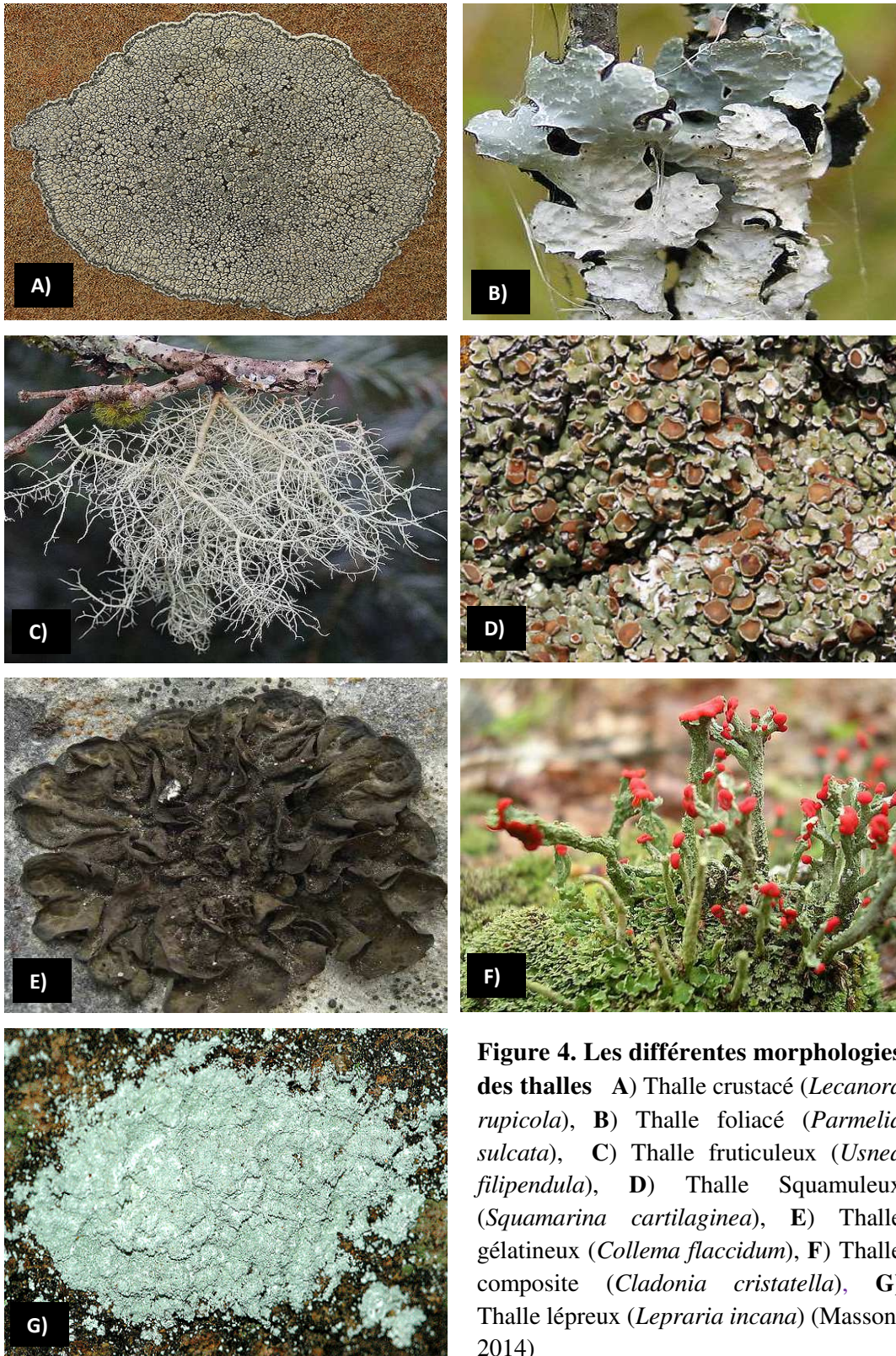


Figure 4. Les différentes morphologies des thalles A) Thalle crustacé (*Lecanora rupicola*), B) Thalle foliacé (*Parmelia sulcata*), C) Thalle fruticuleux (*Usnea filipendula*), D) Thalle Squamuleux (*Squamarina cartilaginea*), E) Thalle gélatineux (*Collema flaccidum*), F) Thalle composite (*Cladonia cristatella*), G) Thalle lépreux (*Lepraria incana*) (Masson, 2014)

3.3. Organes permettant l'identification d'un thalle

Il y a différents organes de structure, de fixation et de reproduction rencontrés chez les lichens (figure 5) qui nous facilitent l'identification des différentes espèces.

- ☀ **Soralies** : Ce sont des organes à l'aspect farineux ou granuleux constitués d'algues et de filaments mycéliens qui sont émis par les déchirures du thalle (Fig. 6.A). Leur couleur est généralement différente de celle du thalle. Leur transport par le vent ou les insectes permet la propagation de l'espèce sur de longues distances.
- ☀ **Isidies** : Ce sont des organes en forme de petits bourgeons constitués d'algues et de filaments mycéliens (Fig.6.B). Leur couleur est généralement la même que celle du thalle car ils sont recouverts par le cortex. Ces petites excroissances peuvent très facilement se détacher pour coloniser le substrat proche.
- ☀ **Apothécies** : Ce sont des organes mycéliens en forme de coupe présents à la surface du thalle qui ont une fonction de reproduction (Fig.6.C).
- ☀ **Périthèces** : Ce sont des organes mycéliens en forme d'ouïe enfoncés dans le thalle et qui présente la même fonction de reproduction que les apothécies (Fig.6.D).
- ☀ **Cil** : Organe filiforme disposé sur les bords du thalle dont la fonction est d'augmenter la surface du lichen (Fig.6.E).
- ☀ **Rhizine** : Organe qui permet la fixation du thalle au substrat (Fig.6.F).
- ☀ **Poïl** : Organe très fin (en principe visible à la loupe) correspondant à un long prolongement d'un filament mycélien du cortex, à peine visible à l'œil nu (Fig.6.G).
- ☀ **Céphalodies** : Présence dans certains lichens à algues vertes de cyanobactéries qui constituent des excroissances à la surface du thalle (Fig.6.H).
- ☀ **Fibrille** : Ramification filamenteuse pouvant atteindre 1 cm de long et de même couleur que le thalle
- ☀ **Papille** : Présence entre les fibrilles du genre *Usnea* de petites protubérances

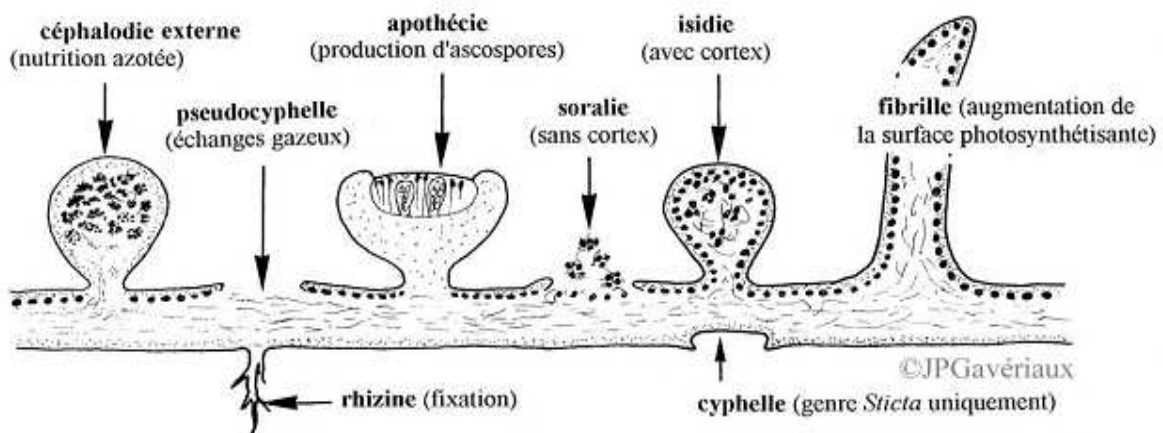


Figure 5. Principaux organes de structure de fixation et de reproduction rencontrés chez les lichens

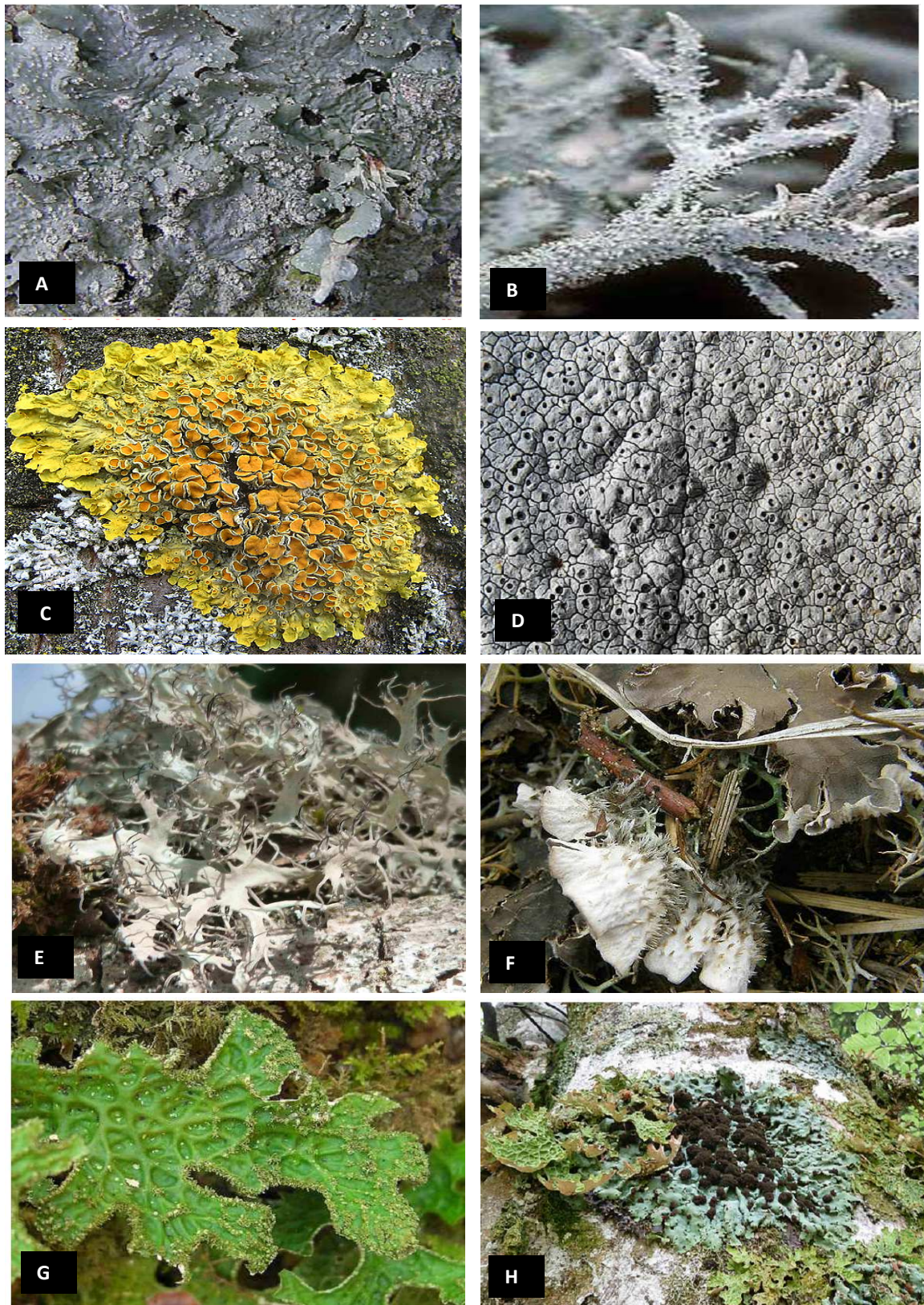


Figure 6. Les organes de l'identification des thalles des lichens (Masson, 2014)

A) Soralties (*Punctelia subrudecta*); B) Isidies (*Pseudevernia cansocians*); C) Apothécies (*Xanthoria parietata*); D) périthèces (*Diploschistes caesioplumbeus*); E) Cils (*Anaptychia ciliaris*); F) Rhizines (*Peltigera rufecens*); G) Poils (*Lobaria pulmonaria*); H) Cephalodies (*Lobaria pulmonaria*)

4. Reproduction et développement des lichens

4.1. La Reproduction

La reproduction permet au lichen de coloniser de nouveaux substrats lorsque les conditions sont favorables. Deux modes de reproduction peuvent être adoptés, sexuée et asexuée. Seul le champignon est capable de reproduction sexuée.

4.1.1. Reproduction Sexuée (champignon seul)

Seul le partenaire fongique se reproduit de façon sexuée par la production de spores. En effet, selon Serusiaux *et al.*, (2004), la spore ne contient que le partenaire fongique et une fois libérée doit obligatoirement trouver son algue ou sa cyanobactérie. A présent, on ne connaît pas de mycobionte se développant sans photobionte. L'inverse n'est pas vrai, toutes les algues et cyanobactéries que l'on rencontre dans les lichens existent à l'état libre. Les spores contenues dans des asques (sac microscopique où se forment les spores) sont produites par les apothécies (Fig.7.A) ou les périthèces (Fig.7.B) qui se distinguent par leur aspect.

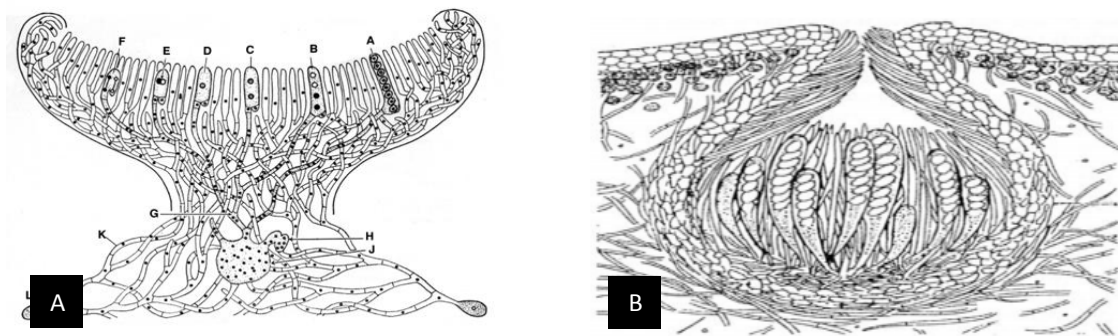


Figure 7. Représentation des organes de reproduction sexuée chez les lichens. A) Apothécie. B) Périthèce d'*Arthonvrenia alba* (Poelt, 1969)

4.1.2. Reproduction Asexuée (algue associée au champignon)

La reproduction asexuée est assurée par la dissémination du complexe lichénique contenant cellules algales et cellules mycéliennes. Les structures associées à ce mode de reproduction sont les sorédies et les isidies. Cependant, la fragmentation du thalle sec libérant directement des complexes lichéniques dans le milieu est possible sans demander de structure particulière.

- ☀ **Reproduction asexuée par sorédies :** le thalle se déchire et laisse pousser des sortes de bosses appelées soralies de couleur différente de la surface du thalle. Ces soralies émettent de petits granules légers appelés sorédies qui se séparent facilement du thalle puis sont transportées par le vent ou les animaux. Les sorédies permettent la colonisation de nouveaux lieux parfois très éloignés.
- ☀ **Reproduction asexuée par isidies :** le thalle émet des petits bourgeons de la même couleur que la surface du thalle appelés isidies. Ces isidies se détachent mais, plus lourdes, elles tombent à proximité et permettent la colonisation d'un même endroit (ex : parois rocheuses ou murs).

4.2. La croissance et développement du thalle

Le fait de vivre dans des milieux sévères limite sérieusement la capacité de croissance des lichens : entre 0,1 et 10 mm par an. Ce chiffre peut varier selon les années humides ou les années sèches et a tendance à baisser avec l'âge. Les lichens à croissance lente sont ceux qui vivent le plus longtemps : ils peuvent vivre plusieurs centaines d'années. Le record est détenu par les *Ramalina* ou les *Usnea* qui vivent dans des conditions un peu moins dures et qui peuvent prendre plusieurs centimètres en une année.

5. L'écologie des lichens

Les lichens sont des végétaux pionniers qui colonisent tous types de milieux terrestres. Ils se rencontrent sous tous les climats et toutes les latitudes, 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).

5.1. L'eau : Selon Ozenda et Clauzade (1970), le problème de l'eau est très important et joue un rôle capitale dans la répartition des lichens, notamment parce que le degré d'hydratation du thalle conditionne les fonctions vitales et qu'un même lichen peut passer très rapidement de l'état de vie active à celui de vie ralentie, suivant les variations de son hydratation (phénomène de reviviscence).

5.2. La lumière : Les lichens sont tous des végétaux héliophiles; seule une minorité d'espèce, comprenant presque exclusivement des lichens à 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 à poids égal, c'est une nécessité pour eux d'avoir des exigences en lumière plus grandes (Ozenda et Clauzade, 1970).

5.3. La température : Nous considérons deux aspects de son action : d'une part l'effet sur l'intensité des fonctions métaboliques et d'autre part la résistance aux conditions extrêmes de température.

☀ **L'action sur le métabolisme :** La photosynthèse varie de la même manière en fonction de la température, mais la courbe est nettement décalée vers les basses températures (Des Abbayes et Chadfaud, 1978 ; Serusiaux *et al.*, 2004).

☀ **La résistance aux températures extrêmes :** Elle est tout à fait remarquable, surtout du côté des basses températures, de nombreuses espèces peuvent résister à l'état hydraté à un séjour de plusieurs jours à -75°C, par contre la chaleur est moins supportée et un séjour à 50°C environ arrête rapidement les échanges gazeux d'une manière irréversible. Mais à l'état desséché la résistance est beaucoup plus considérable. Des échantillons ont résisté à -183°C pendant 18 heures et d'autre part d'autres échantillons ont résisté plus de 30 minutes à une température égale à 100°C (Ozenda et Clauzade, 1970).

5.4. 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, est 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 leur périphérie mais permet en revanche de localiser ces zones de pollution (Ozenda et Clauzade, 1970).

5.5. Les facteurs liés au substratum

Selon Ozenda et Clauzade (1970), les lichens se développent dans des milieux très variés, sur les substrats naturels ou artificiels souvent inattendu comme les métaux, le verre, le cuivre, les os, le carton. Toute fois ils font défaut dans la mer.

5.6. Les facteurs biotiques

Ce sont essentiellement la concurrence vitale s'exerçant entre les lichens eux même et aussi entre les lichens et les autres plantes. Il y a aussi l'influence de la végétation de bryophytes et de plantes vasculaires qui modifie localement les conditions climatiques et substratiques, créant des microclimats et des microstations. Ainsi que l'action des animaux et principalement de l'homme, qui se manifeste surtout mécaniquement (Piétinement, fragmentation des thalles) et chimiquement par l'enrichissement de l'atmosphère et du substrat en ammoniac, sels ammoniacaux, nitrate, phosphates (Ozenda et Clauzade, 1970).

6. La Diversité lichénique

Selon Rousteau (2006), dans le monde entier, il y a environ 30.000 espèces et durant chaque année cinq à dix nouveaux lichens sont découverts. La diversité des lichens est essentiellement due aux partenaires mycophytiques. Ceci dit, il reste beaucoup à apprendre sur les lichens, d'une part parce qu'on les a négligés, d'autre part parce que de nombreuses régions sont insuffisamment prospectées. Certains de ces régions oubliées sont parmi les moins hospitalières du globe (zones polaires, hautes montagnes) ce qui explique éventuellement le moindre empressement des lichénologues. En Algérie, plusieurs centaines d'espèces lichéniques nouvelles ont été ajoutées à la liste floristique suite aux travaux réalisés par l'équipe du Professeur Semadi (région de Annaba) ainsi que celle des Professeurs Rahali et Djellil qui ont réalisé plusieurs travaux sur les lichens de la région du centre nord du pays (Rahali 2002 ; Rahali 2003 ; Merabti 2008). Actuellement, le nombre de lichens recensés est de 1085 espèces (Ait Hammou, 2014)

7. Intérêts pratiques 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, 2000).

7.1. 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. Les lichens peuvent aussi 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, 2000).

7.2. Usages industriels : L'extraction industrielle des lichens en produits pour la parfumerie se fait surtout à partir de 2 lichens fruticuleux récoltés sur les arbres : *Evernia prunastri* (la mousse du chêne) et *Pseudevernia furfuracea* (mousse des arbres). On en récolte chaque année entre 8000 et 9000 tonnes pour les parfums à odeur de "Chypre", de "cuir de Russie" (George, 1999).

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

7.4. 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)

8. Les Métabolites Secondaires Lichéniques

Les produits lichéniques peuvent être divisés en deux groupes, soit les métabolites primaires et secondaires. Les substances naturelles primaires sont communes à plusieurs organismes et par définition, elles sont essentielles à la survie et la reproduction. Parmi les composés primaires, on retrouve les acides aminés, les acides gras, les sucres, les protéines, les polyols, les caroténoïdes, les vitamines, etc., qui sont bio-synthétisés par l'algue et le partenaire fongique. Ces composés sont dits intracellulaires, étant donné qu'ils se retrouvent dans la paroi cellulaire et dans les protoplastes, alors que les métabolites secondaires sont dits extracellulaires, comme ils se retrouvent à la surface de l'hyphe du champignon. Les composés secondaires ne sont pas essentiels à la survie de l'organisme, mais ils y jouent des rôles spécifiques. L'étude phytochimique des lichens se concentre particulièrement aux métabolites secondaires puisque, contrairement aux métabolites primaires, ils sont caractéristiques de l'organisme à l'étude. On dénombre actuellement plus de 1050 métabolites qui ont été isolés des lichens. La grande majorité de ces métabolites sont uniquement d'origine fongique, toutefois l'algue peut participer aux étapes finales de la biosynthèse d'un métabolite (Culberson, 1970). L'algue représente environ 3 % de la masse sèche du lichen, c'est pourquoi les métabolites uniquement produits par l'algue ne sont pratiquement jamais isolés étant donné qu'ils sont en très petite quantité dans l'organisme. Parmi les métabolites isolés, il y a environ seulement 5 à 10 % de ces composés qui sont aussi synthétisés par d'autres organismes comme les champignons. Les métabolites issus des lichens sont classés selon leur voie biosynthétique, cette classification a été proposée par Asahina et Shibata en 1971, puis a été améliorée par Culberson et Elix (Culberson et Elix, 1989 ; Elix 1996).

8.1. Voies de biogenèse des 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). La Figure 8 récapitule ces différentes voies de biosynthèse décrites dans la littérature pour les composés secondaires lichéniques.

8.2. Métabolites secondaires appartenant aux voies principales de biogenèse

Les lichens produisent une grande variété de métabolites secondaires de type phénolique qui proviennent pour la très grande majorité de la voie biosynthétique de l'acétate polymalonate. Les voies de l'acide shikimique et de l'acide mévalonique sont aussi des voies biosynthétiques par lesquelles les grands groupes de produits lichéniques sont produits. Les différents types de composés lichéniques qui dérivent de ces trois voies métaboliques sont présentés au tableau 1, en plus du nombre approximatif de composés rapportés pour chaque type. 82 % des métabolites connus font partie de la voie des acétates polymalonates qui englobent la majorité des types de composés lichéniques. En effet, dix des quatorze types rapportés sont associés à cette voie. Parmi ces types, les depsides, depsidones et diphényléthers sont les principaux produits naturels caractéristiques des lichens avec plus de la moitié du nombre de métabolites connus. Les terpènes et les stéroïdes qui tirent leur origine biosynthétique de la voie des mévalonates et les composés associés à la voie de l'acide shikimique représentent respectivement seulement 16 % et 2 % des métabolites connus.

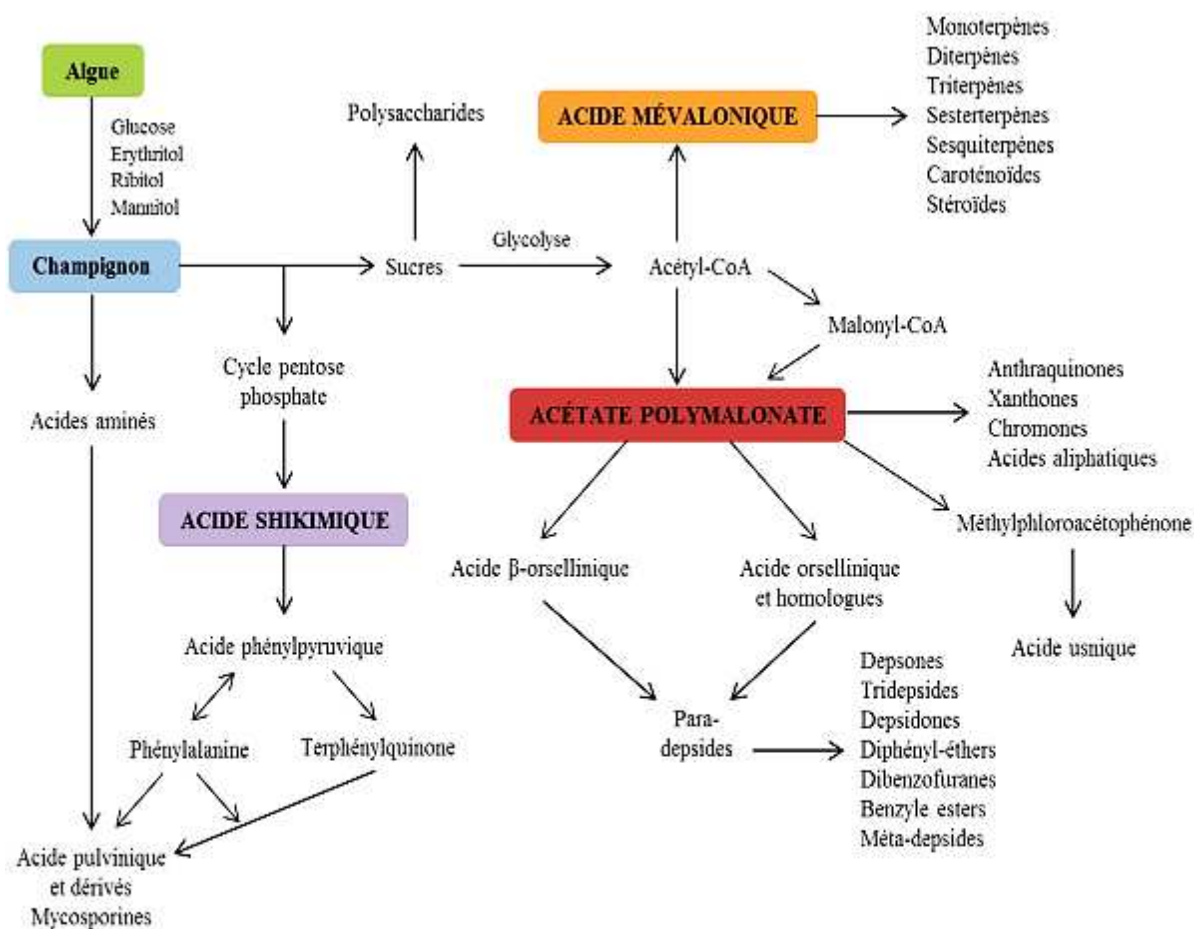


Figure 8. Les différentes voies de biosynthèse des métabolites secondaires lichéniques

Tableau 1. Les Classes des métabolites secondaires chez les lichens

Voie de biosynthèse	Type de composé	Nombre de composés
Voie des acétates polymalonates	Acides aliphatiques, esters et dérivés	56
	Monoaromatique phénoliques	32
	Depsides, tridepsides et esters benzyliques	207
	Depsidones et diphényléthers	131
	Depsones	8
	Dibenzofuranes, acide usnique et dérivés	29
	Anthraquinones et dérivés	52
	Chromones et chromanes	13
	Naphtoquinones et bis-naphtoquinones	10
	Xanthones et bis-xanthones	78
Voie des mévalonates	Di-, sesquiter-, et tri-terpènes	88
	Stéroïdes	33
Voie de l'acide shikimique	Terphénylquinones	2
	Dérivés de l'acide pulvinique	13

Chapitre II

Matériel et Méthodes

1. Description de la région d'étude

Le Parc National du Djurdjura se trouve dans la partie nord de l'Algérie à environ 40 Km à vol d'oiseaux de la mer et 150 Km à l'Est d'Alger (Figure 9). S'étendant sur une superficie de 18850 Ha. Du point de vue administratif, le Parc National du Djurdjura intègre des portions de territoire de wilayate de Bouira et de Tizi Ouzou.

Sur le plan climatique et bioclimatique, le Djurdjura est l'une des régions les plus arrosées de l'Algérie, avec une pluviométrie annuelle allant de 1200 à 1500 mm. Les précipitations ont lieu principalement sous forme de pluie et de neige. Les mois les plus froids sont décembre, janvier et février. Les températures minimales absolues sont inférieures à zéro de novembre à avril. Les températures maximales moyennes ne dépassent pas 24°C. Les chutes de neige ont lieu à partir du mois de novembre et persistent, selon les années, jusqu'au mois de mai et quelquefois jusqu'à juin. Au Djurdjura, s'échelonnent les bioclimats subhumide, humide à hiver froid, frais et tempéré avec une saison sèche de 01 à 3 mois, perhumide (Mechdella) et semi-aride (Mallil, 2012).

La végétation du parc est de type méditerranéen, elle est composée en majorité de cèdre de l'atlas et Chêne vert plus ou moins mélangés selon l'altitude. Les principales forêts rencontrées sont :

- ✿ La forêt méditerranéenne d'essences à feuilles persistantes dont les principales espèces sont le Chêne vert, le Chêne liège, le houx.
- ✿ La forêt méditerranéenne d'essences à feuilles caduques dont les principales espèces sont : l'Érable à feuilles obtus, l'Érable de Montpellier, l'Érable de champêtre, *Prunus avium*, le chêne zeen.
- ✿ La forêt méditerranéenne d'essences résineuses dont les principales espèces sont : le Cèdre de l'Atlas, le Pin noir, le pin d'Alep, l'if.

Le Parc National du Djurdjura abrite plus d'une vingtaine de mammifères représentés par : le Singe magot, l'hyène rayé, la Mangouste, le chacal doré, le Serval, la Genette, le porc épic et la belette. Le Djurdjura apparaît comme l'un des massifs les plus riches en oiseaux du nord de l'Algérie. Ce beau massif représente le lieu de prédilection des rapaces dont les plus importants sont : l'aigle royal, le vautour fauve, le gypaète barbu, le percnoptère d'Égypte, l'aigle de bonelli, le Faucon crécerelle, la buse féroce, la chouette hulotte, le hibou grand-duc. Comme autres espèces d'oiseaux, il existe la grive musicienne, le rossignol philomèle, le bec croisé des sapins, la grive draine, le pic vert, huppe fasciée.

Du point de vue curiosité naturelle, le parc est constitué des plus belles forêts de la région telles les forêts de Ait-Ouabane et de Tigounatine. On y découvre aussi les trois grands massifs (le Haizer avec le Djebel Tachguerguelt, le col blanc, le pic des cèdres), la dent du Lion ainsi que de superbes et vastes pelouses. Comme on peut trouver et visiter les grottes du Makabé et du Léopard, le gouffre le plus profond d'Afrique, dont la profondeur est encore indéterminée (Atlas des parcs nationaux – Algérie, 2005).

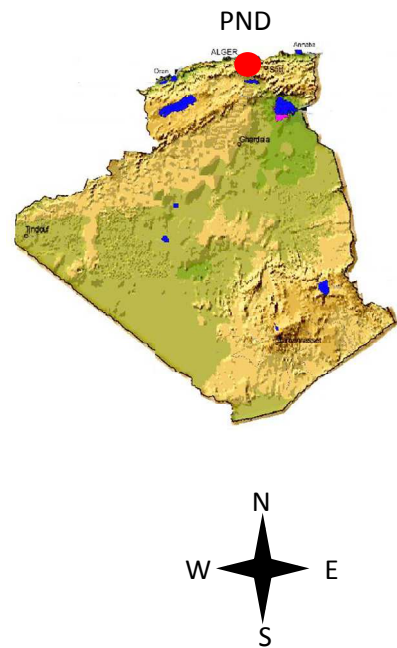


Figure 9. Situation géographique du PND

2. Echantillonnages des lichens

Le matériel végétal utilisé dans les différentes expérimentations de ce travail provient de la zone intégrale du parc national du Djurdjura (Wilaya de Bouira), située à environ 145 km à l'Est de la capitale. Il est constitué de thalles de plusieurs espèces lichéniques prélevées de manière aléatoire et non sélective et ce, à cause de la rareté, voire l'absence totale, des informations concernant la nature et l'usage médical des différentes espèces lichéniques du parc. La récolte des échantillons a été faite sur différents substrats (aussi bien sur des troncs d'arbres que sur des roches) au niveau de la zone d'étude, durant la première semaine du mois d'Avril 2017. Sur chaque substrat, une dizaine thalles de différentes espèces ont été récoltés, soit l'équivalent d'environ 3 à 5g de matière végétale fraîche. Les thalles ont été décollés des troncs d'arbres grâce à un couteau, puis placés dans des sachets en plastique qui servent à la conservation de courte durée pendant le transport (fig.10). Il faudra noter immédiatement toutes les indications nécessaires comme la date du prélèvement, le nom de station, la nature de support etc., sur les différents échantillons puis transportés au laboratoire pour identification et analyse.



Figure 10 : Collecte des échantillons lichéniques sur terrain

3. Identification des espèces

L'identification des espèces est d'abord effectuée par observation des caractéristiques morphologiques générales, telles que la forme, la couleur, le diamètre du thalle ainsi que l'orientation des extrémités et le type de ramification. Ces observations sont comparées avec la description des espèces signalée par la littérature (Huneck, et Yoshimura, 1996 ; Culberson, 1969 ; Hale, 1969) et rapportée à la partie bibliographique. Une observation au microscope binoculaire permet de constater la présence ou l'absence des cils, soralies, isidies ainsi que des structures apothéciaires. L'identification est par la suite confirmée par les réactions colorimétriques, qui donnent selon l'espèce des réactions différentes, tel que décrites au Tableau 1. Les réactifs sont appliqués directement sur les thalles, sur une surface dépourvue d'impuretés. Les réactifs utilisés sont quatre, à savoir : l'hypochlorite de sodium (notée C), l'hydroxyde de potassium (notée K), le Lugol (noté I), et l'acide nitrique (noté N). Après l'ajout de quelques gouttes, une coloration est obtenue rapidement. Il faut cependant se méfier de la coloration que prend le thalle une fois hydraté, n'indiquant pas nécessairement un test positif. La solution de KOH est préparée en dissolvant 20 % p/v de cette base dans 100 ml d'eau distillée. Pour la solution de l'acide nitrique utilisée est une solution aqueuse à 50 %. Quant à la composition du réactif au Lugol, elle est identique à celle utilisée en microscopie, dont la préparation est à base de diiode (I₂) et d'iodure de potassium (KI). Nous avons utilisé aussi une solution concentrée de NaOCl (solution commercialisée et dépourvue de colorants ou d'aromatisants).

Tableau 2. Les réactions chimiques de certains métabolites secondaires présents dans les lichens (d'après Elix et Crook, 1992)

Réactions colorées		Un exemple de substance présente		
	K+ violet		pariétine	
	K+ jaune brunâtre		acide fumar-protocétrarique	
K+		P+ jaune	atranorine	
	K+ jaune ou orange	P+ rouge brique	acide physodalique	
		P+ orange	acide stictique	
	K+ jaune puis rouge	P+ jaune pâle	acide hyostictique	
		P+ rouge	acide salazinique	
K-	C+ C+ rouge		acide gyrophorique	
	C+ rose		acide olivétorique	
		KC+ jaune	acide usanique	
	KC+	KC+ rouge	acide lobarique	
	C-		KC+ jaune orange	acide barbatique
			KC+ rose	norlobaridone
	KC-		P+ rouge	acide alectorique
			P+ jaune soufre	acide psoromique

4. Extraction des métabolites lichéniques

Au laboratoire, les échantillons ont été méticuleusement nettoyés et séparés des traces du substratum puis étalées et laissées sécher à température ambiante afin d'être utilisés par la suite pour les extractions des métabolites secondaires. Les métabolites ont été extraits des lichens (2 g) avec 40 ml de solvant d'extraction (l'acétone, l'éther diéthylique, l'éther de pétrole et l'éthanol) par macération. Les extraits ont d'abord été abandonnés pendant une nuit sous agitation puis préfiltrés sur papier filtre pour éliminer les débris et les matières en suspension. Les solutions extraites ont été concentrées à l'évaporateur rotatif à environ 20 ml, puis soumises à une seconde filtration sur des filtres en microfibre de verre de 0,45 μm jusqu'à l'obtention d'une solution limpide et facile à analyser. Par la suite, le filtrat de chaque échantillon a été divisé en deux parties (soit 10 ml dans chacune). Dans la première partie, réservée pour les tests par la méthode de diffusion sur gélose, des disques de papier buvard (25 environ) ont été imprégnés puis laissés à température ambiante jusqu'à l'évaporation complète du solvant afin d'éliminer toute trace de ce dernier qui risquerait de nous fausser les résultats lors de l'analyse. Quant à la deuxième partie, réservée pour les tests d'efficacité sur milieu liquide, l'extrait a été évaporé à sec puis repris dans 5 ml de l'eau distillée.

5. Test d'efficacité antimicrobienne

5.1. Les Microorganismes de références

Pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits lichéniques, nous avons utilisé sept germes pathogènes, les plus répandus dans le milieu hospitalier. Les souches de référence proviennent du Centre Médical de Boumerdes (hôpital de thénia) : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (R), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (S), *Klebsiella oxytoca*, *Serratia marcescens*, *Salmonella sp* et *Proteus sp*



Figure 11. Les différentes souches bactériennes de référence utilisées ainsi que le dispositif de mesure des zones d'inhibition

5.2. Préparation de l'inoculum et ajustement de la turbidité

A partir d'une culture bactérienne pure, incubé pendant 18 à 24 heures sur milieu non sélectif adapté aux exigences de la souche, nous avons préparé une suspension inoculum en eau physiologique (ou bouillon Mueller-Hinton) équivalente au standard Mc Farland 0,5. Ce dernier est obtenu par un mélange d'acide sulfurique et de chlorure de baryum dont l'absorbance à 625 nm doit être comprise entre 0,08 et 0,10. Le standard Mc Farland 0,5 correspond approximativement à une suspension homogène d'*E. coli* de $1,5 \times 10^8$ UFC/cm³

5.3. Tests d'efficacité sur milieu gélosé (La technique de diffusion standard)

La méthode recommandée par l'OMS est celle de Kirby Bauer. Elle consiste à déposer à la surface d'une gélose (Mueller-Hinton) des disques de papier buvard imprégnés des différents extraits testés. Chaque extrait diffuse au sein de la gélose et détermine des concentrations inversement proportionnelles à la distance par rapport au disque. Avant de déposer les disques, on ensemence uniformément la surface de la gélose avec le microorganisme à étudier. L'inoculum doit être d'une opacité équivalente à 0,5 sur l'échelle de MacFarland, soit environ 10^8 UFC/cm³. Après une incubation de 24 à 72 heures en anaérobiose à 37°C, les disques apparaissent entourés d'une zone d'inhibition dont le diamètre permet de mesurer la C.M.I. (la culture s'arrête dans la gélose, où il existe une concentration égale à la C.M.I.). Dans cette étude nous avons considéré la zone d'inhibition $(I) = (D1-D2)/2$ avec D1 : Diamètre d'inhibition total ; D2 : Diamètre du disque (Figure 12).

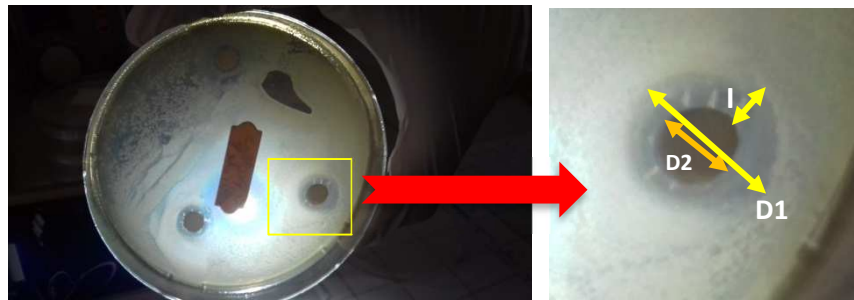


Figure 12. Les zones d'inhibitions obtenues par la technique de diffusion standard

5.4. Tests d'efficacité sur milieu liquide

Tests d'efficacité sur bouillon nutritif est une technique dans laquelle une suspension bactérienne (à une concentration optimale) est testée contre des concentrations variables d'un agent antimicrobien dans un milieu liquide de composition prédéterminée et documentée. Cette méthode peut être effectuée dans des tubes contenant un volume minimum de 2 ml (macrodilution, figure 13) ou dans de plus petits volumes à l'aide de plaques de microtitration (microdilution). Dans ce travail nous avons opté pour la première méthode. Dans des tubes à essai contenant 5 ml de bouillon nutritif nous avons introduit 1ml de la suspension bactérienne à 10^8 UFC/cm³ et 0,5 ml de l'extrait lichénique préalablement obtenu par une dilution dans l'eau distillée (Figure 14). Pour les témoins, les extraits lichéniques ont été remplacés par 0,5 ml de l'eau distillée. Après incubation des tubes dans une étuve à 37°C pendant de 24 heures, la densité des suspensions bactériennes ont été lues au spectrophotomètre UV/Vis à une longueur d'onde de 625 nm. Les pourcentages de la croissance bactérienne ont alors été déduits par la formule suivante :

$$S = \frac{[DO \text{ éch. } (t_1) - DO \text{ éch. } (t_0)]}{[DO \text{ témoin } (t_1) - DO \text{ témoin } (t_0)]} \times 100$$

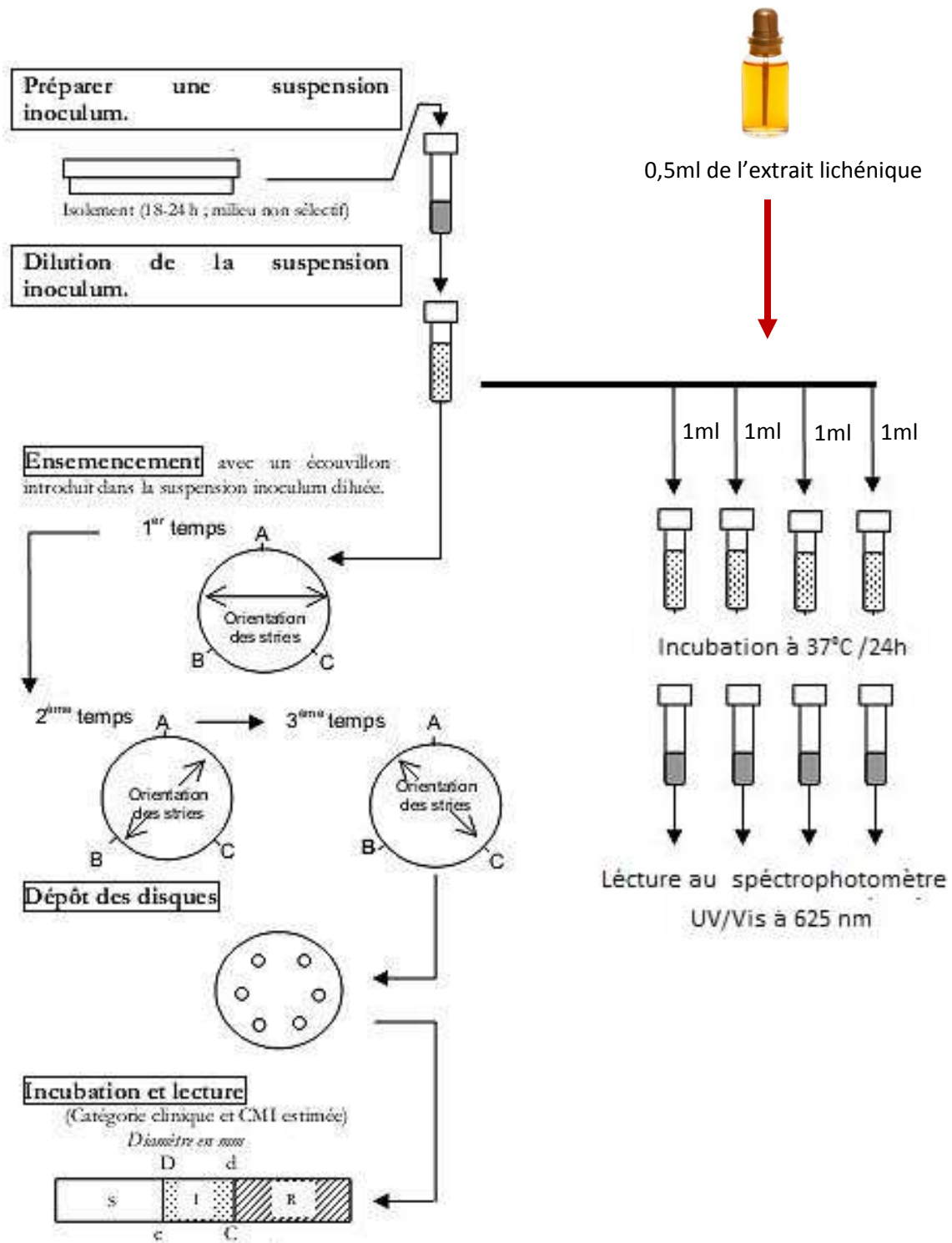


Figure13. Schéma récapitulatif des tests d'efficacité antimicrobienne sur milieu solide et liquide (D'après le Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, 2012)



Figure 14. Quelques étapes lors de la réalisation des tests d'efficacité sur bouillon nutritif

6. Analyses par Chromatographie gaz couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM)

Ce type d'analyse nous permettra de séparer et d'identifier une très large gamme de molécules chimique et biochimiques dans les extraits lichéniques. Un screening phytochimique de tous les extraits ayant une efficacité antimicrobienne avérée a été programmé. Cependant, faute de moyen, nous n'avons, hélas, pu analyser que les extraits éthanolique et Acétonique de l'espèce *X. parietina*.

6.1. Principes du couplage GC/MS

Le couplage de la chromatographie en phase gazeuse et de la spectrométrie de masse est constitué de trois modules : un injecteur, une colonne capillaire dans un four et un détecteur (figure 15). Les composés sont tout d'abord volatilisés dans l'injecteur et entraînés dans le chromatogramme le long de la colonne chromatographique par un gaz vecteur, dans le cas de cette étude, l'hélium. Après avoir été séparés, les composés arrivent dans la source du spectromètre de masse qui va permettre l'ionisation des composés. Une fois ionisés les ions (ions précurseurs) vont être fragmentés en fonction de leur stabilité (ions produits). Les ions sont ensuite séparés d'après leurs rapports masse sur charge (m/z) dans un analyseur et être détectés par un multiplicateur d'électrons dans le cas de la spectrométrie de masse simple. Dans le cas de la spectrométrie de masse en tandem, les ions produits sont à nouveau fragmentés dans une cellule de collision en ions « fils » qui seront séparés en fonction de leurs rapports masse sur charge (m/z) dans l'analyseur et détectés par un multiplicateur d'électrons. Dans les deux cas, on obtient donc un chromatogramme de l'extrait injecté et les spectres de masse des ions correspondant aux molécules, suffisamment volatiles et ionisables, dans la gamme de masses de l'appareil. Les éléments importants dans un couplage GC/MS sont donc la source du spectromètre de masse qui va ioniser les molécules et l'analyseur qui va séparer les ions. Différents types de sources et d'analyseur sont commercialisés. Au cours de ces travaux de mémoire, une source à impact électronique (EI) et un analyseur de masse de type quadripôle ont été utilisés.

6.2. Appareillage et paramètres d'acquisitions

Les analyses GC-MS sont réalisées sur un instrument 5973N (Hewlett Packard) en mode d'impact électronique positif (énergie d'ionisation : 70 eV), l'injection est réalisée en mode split T° 250°C avec un ratio de 25 : 1, Gaz vecteur : He, à un débit de 1.5 ml/min, le débit reste constant tout au long de l'analyse. Le programme de température est : 70°C durant 3min, 5°C/min jusqu'à 100°C, 3°C/min jusqu'à 240°C, 5°C/min jusqu'à 300°C, suivi d'un isotherme à 300°C durant 10 min. La colonne capillaire utilisée est de type HP5-MS (30m x 0.25 μ m x 0.1 μ m), greffée méthyle avec 5% de diphényle. La ligne de transfert est à 280°C. Le balayage de masse allant de 50 à 600 amu.

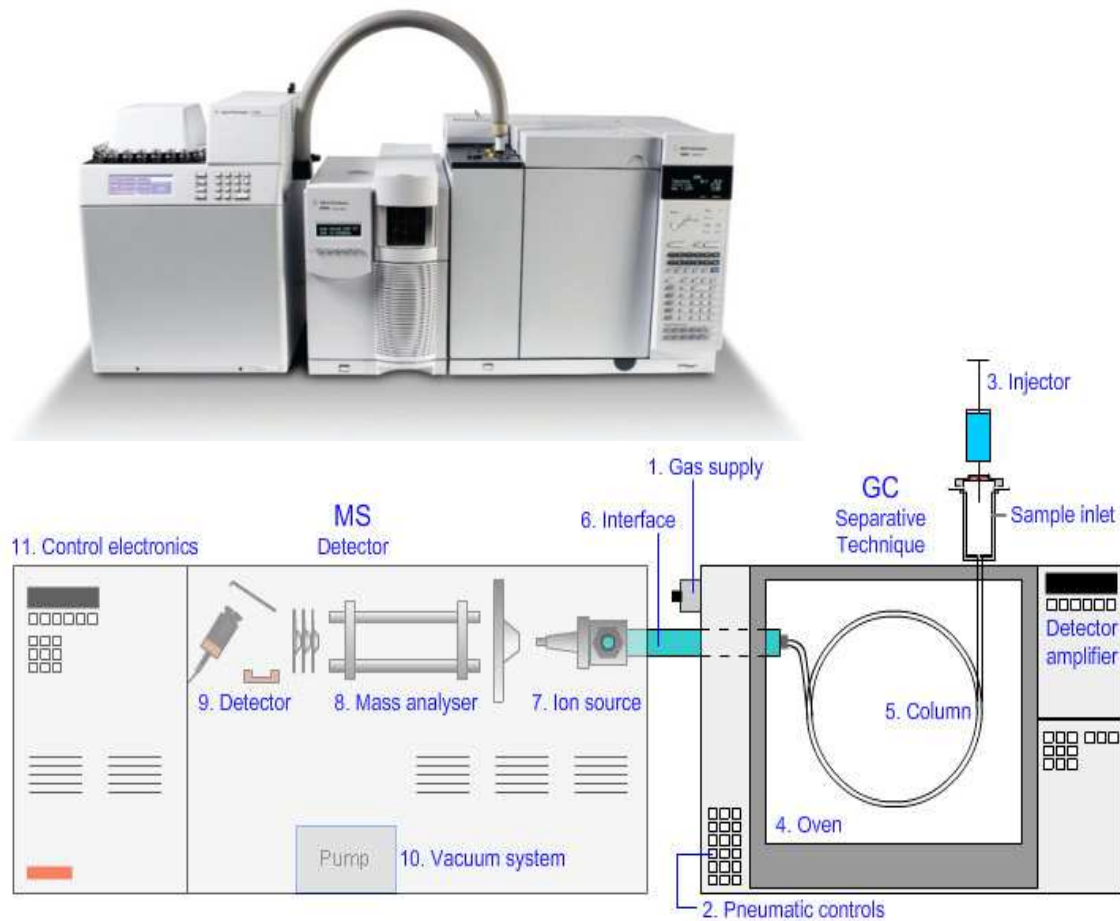


Fig. 15 : Appareillage utilisé en chromatographie en phase gazeuse, comprenant notamment un four, une colonne, un injecteur, un détecteur et un système de traitement des données.

7. Test de significativité

La comparaison des moyennes a été réalisée via un test de significativité univarié, en l'occurrence, le test de Student (ou le t -test). Ce test compare l'écart entre les moyennes de deux groupes d'échantillons avec la dispersion interne des groupes et renvoie la probabilité p de faire une erreur en rejetant l'hypothèse nulle (pas de différence entre les groupes comparés). Une probabilité de 5% ($\alpha < 0,05$) a été choisi comme seuil.

Chapitre III

Résultats et Discussion

1. Résultats

1.1. Identification des espèces

Les espèces sont identifiées selon la méthode décrite dans la partie « matériels et méthodes ». Tout d'abord une première identification est effectuée d'après les caractéristiques morphologiques, qui correspondent à celles rapportées par la littérature. L'identification des différentes espèces échantillonnées est de plus confirmée par les réactions phytochimiques et colorimétriques. Dans ce travail nous avons récolté 56 échantillons sur le terrain que nous avons, après examinations méticuleuse, regroupé en 22 espèces lichéniques distinctes (figure 16), dont 19 ont été identifiées. Parmi toutes ces espèces lichéniques, présentées ci-après, seules les six (06) espèces qui ont été choisi pour la réalisation de ce travail seront décrites en détail dans cette partie.

1.1.1. Espèce N°1. *Pseudovernia furfuracia*

Pseudovernia furfuracia, est une espèce très commune et largement distribuée qui se développe sur les écorces de feuillus ou de conifères. L'examen de l'aspect morphologique des échantillons récolté en cette espèce (figure 17A), décèle un thalle fruticuleux, dépassant souvent 10 cm de longueur, souvent pendant, formé de lanières larges de 2 à 5 mm environ, ramifiées, à face supérieure grisâtre et face inférieure noire, canaliculée et à bords incurvés. Ce thalle a une organisation dorsiventrale, tout comme les foliacés, et développe sur sa face supérieure de nombreuses isidies, concolores, cylindriques, ayant plusieurs millimètres de longueur. L'analyse chimique de ce lichen, a montré un cortex K+ jaune (figure 17B); C- ; KC+ rouge ou rougeâtre, I faiblement + bleuâtre

Systématique de l'espèce identifiée

Règne : *Fungi*

Embranchement : *Ascomycota*

Classe : *Lecanoromycetideae*

Ordre : *Lecanorales*

Famille : *Parmeliaceae*

Genre *Pseudovernia*

Nom binomial de l'espèce : *Pseudovernia furfuracia* (L.) Zopf.





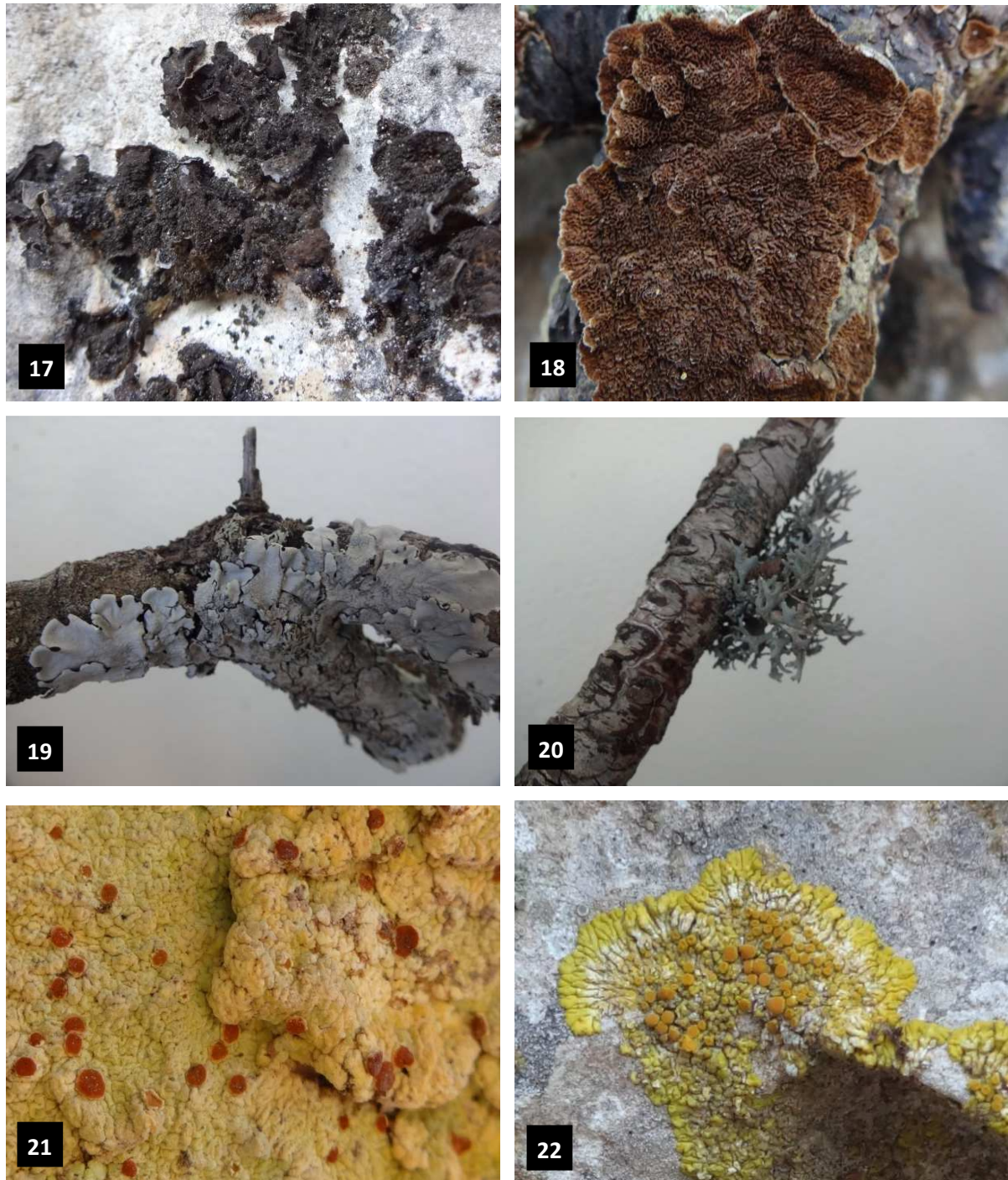


Figure 16: Liste des différentes espèces de lichen échantillonnées dans le parc national de Djurjura : 1) *Pseudovernia furfuracea*, 2) *Physconia distorta*, 3) *Lobaria virens*, 4) *Lepraria sp.*, 5) *Lepraria sp.*, 6) *Parmelia saxatilis*, 7) *Platismatia glauca*, 8) *Lecanora chlorotera*, 9) *Lecidella elaeochroma*, 10) *Xanthoria parietina*, 11) *Anaptychia ciliaris*, 12), Non identifié 13) *Aspicilia calcarea*, 14) *Physcia adscendens*, 15) *Squamarina cartilaginea*, 16) *Lecanora reuteri*, 17), Non identifié 18), Non identifié 19) *Parmelia sulcata*, 20) *Evernia prunastri*, 21) *Fulgensia fulgida*, 22) *Caloplaca aurantia*

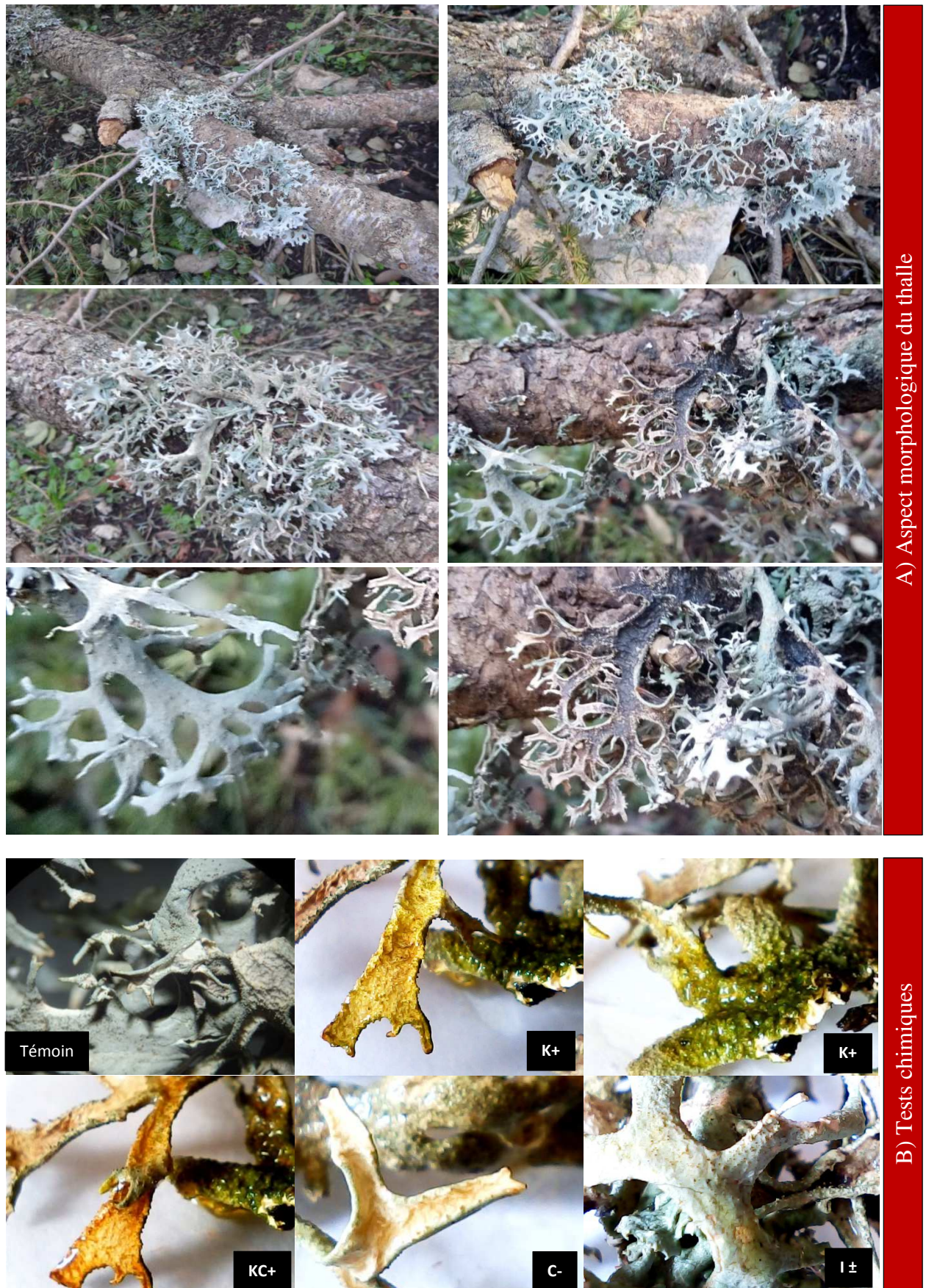


Figure 17. *Pseudovernia furfuracea*. A) Aspect morphologique du thalle. B) Tests chimiques

1.1.2. Espèce N°3. *Lobaria virens* (With.) (*Lobaria laetivirens*)

Lobaria virens est une espèce foliacée qui se développe sur les troncs et les branches d'arbre principales de feuillus (notamment le chêne vert) de la zone intégrale du parc national de Djurdjura, presque toujours dans des endroits ombragés. L'examen macroscopique de cette espèce montre un thalle en forme de rosettes ayant parfois plus de 30 cm de diamètre (figure 18A), assez adhérent au substrat, légèrement papyracé, fragile à l'état sec, présentant des lobes de 3 à 10 mm de large et qui sont plus ou moins arrondis aux extrémités, onduleux et parfois imbriqués surtout vers le centre. La face supérieure du thalle est grise-brune à grise-verte, verdissant fortement en présence d'eau. Les apothécies sont très fréquentes sur le thalle et possèdent un bord de la même couleur que le thalle (apothécies lécanorines). Le diamètre des apothécies oscille entre 1 et 8 mm, de couleur brune-rouge. Les résultats des tests chimiques aux réactifs (figure 18B) révèlent une coloration K+ jaune claire, C+ rose pâle, KC+ orange, réaction au lugol négative (I-).

Systématique de l'espèce identifiée

Règne : *Fungi*

Embranchement : *Ascomycota*

Classe : *Lecanoromycetideae*

Ordre : *Peltigerales*

Famille : *Lobariaceae*

Genre *Lobaria*

Nom binomial de l'espèce : *Lobaria virens* (With.).

1.1.3. Espèce N°5. *Lepraria* sp

Bien qu'il soit extrêmement difficile d'abordé l'identification des espèces du genre *Lepraria* et ce, à cause du nombre et la similitude frappante entre certaines espèces de ce genre, nous avons pu, néanmoins, établir une description de l'espèce n° 5 que nous avons échantillonné au niveau du parc de Djurdjura. L'examen macro et microscopique des échantillons récoltés de cette espèce montre un thalle lépreux (figure 19A), constitué de granules ayant un diamètre inférieur à 1mm (figure 19B), de couleur gris-vert toujours nuancé de bleuâtre ; avec une marge non clairement délimitée. Cette espèce est très commune sur écorce et roches dans des endroits ombragés et abrités des précipitations directes. Cette description semble correspondre à celle de l'espèce *Lepraria incana*. Cependant, une détermination plus précise et plus sûre de cette espèce du genre *Lepraria* nécessite une analyse de son profil chromatographique réalisé par CCM, ou encore mieux, par GC/MS ; chose que nous n'avons pas pu réaliser, faute de temps et de moyens.

Systématique de l'espèce identifiée

Règne : *Fungi*

Embranchement : *Ascomycota*

Classe : *Lecanoromycetideae*

Ordre : *Lecanorales*

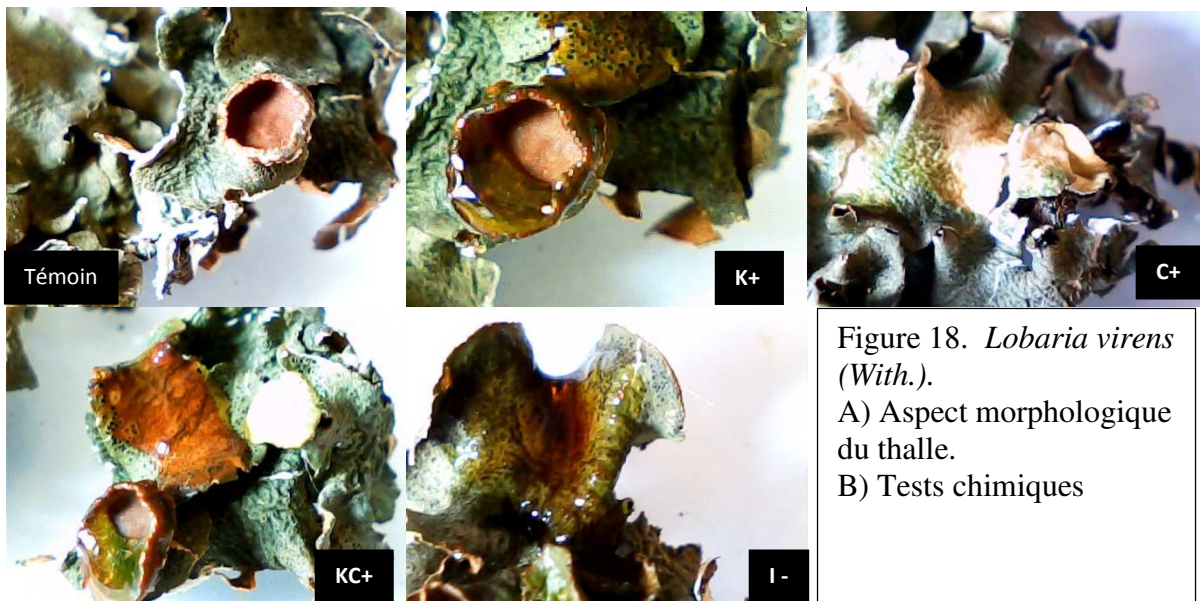
Famille : *Stereocaulaceae*

Genre *Lepraria*

Nom binomial de l'espèce : *Lepraria* sp.



A) Aspect morphologique du thalle



B) Tests chimiques

Figure 18. *Lobaria virens* (With.).
 A) Aspect morphologique du thalle.
 B) Tests chimiques



A) Aspect macroscopique du thalle



B) Aspect microscopique

Figure 19. *Lepraria sp* (espèce n°5) : Aspect macroscopique (A) et microscopique du thalle (B).

1.1.4. Espèce N°7. *Platismatia glauca* (*Cetraria glauca*)

Sur le plan macroscopique, l'espèce échantillonnée présente un thalle foliacé de 1 à 10 cm de diamètre, avec des lobes de 1 à 2 cm de largeur environ, de couleur gris verdâtre plus ou moins foncé, avec souvent une teinte brune, voire entièrement brun en situation très héliophile. Les lobes sont d'aspect onduleux, irrégulièrement incisés et à marge entière à sublobulée, munie de sorédies s'étendant sur toute la surface du thalle (figure 20A). La face supérieure du thalle est lisse, de couleur bleu-vert glauque, d'où le nom de cette espèce ; alors que la face inférieure est brun foncé, plus claire vers les bords, presque toujours munie de rhizines isolées assez longues et peu abondantes, c'est pourquoi le thalle est donc peu adhérent au substrat. Cette espèce est commune dans le parc national de Djurdjura, notamment dans les stations humides, bien éclairées ou ensoleillées. Elle a été échantillonnée particulièrement sur l'écorce d'un résineux, à savoir le pin noir (*Pinus nigra*).

Les tests phytochimiques (figure 20B) montrent une réaction positive (couleur jaune) à l'hydroxyde de potassium. Les autres réactions sont négatives. Nous avons donc un cortex K+ jaune, C-, I- .

Systématique de l'espèce identifiée

Règne : *Fungi*

Embranchement : *Ascomycota*

Classe : *Lecanoromycetideae*

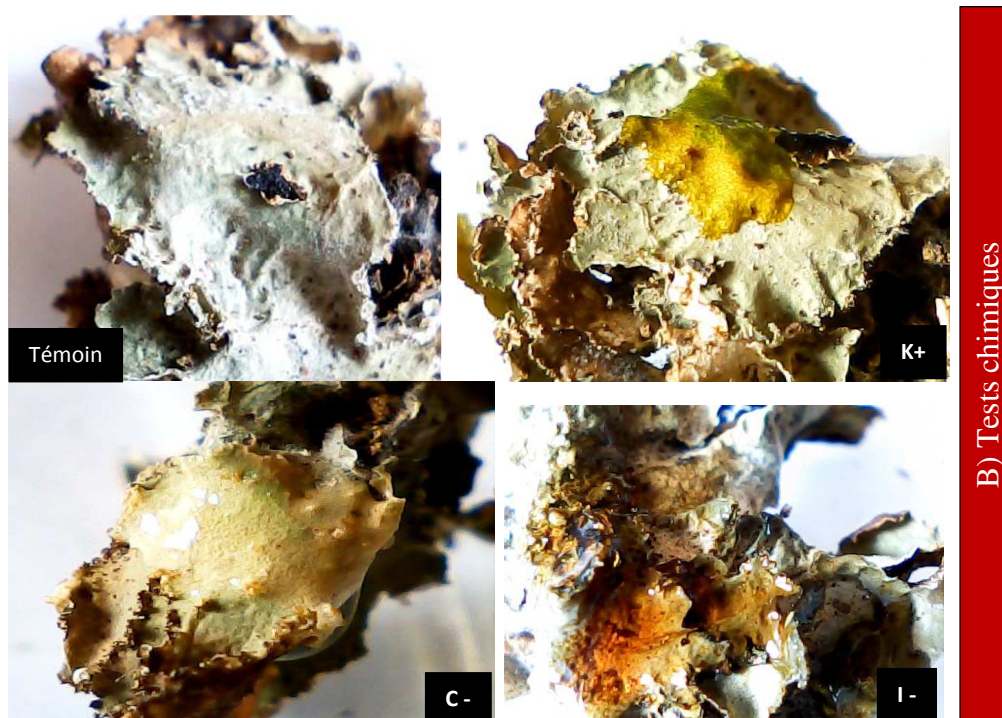
Ordre : *Lecanorales*

Famille : *Parmeliaceae*

Genre *Platismatia*

Nom binomial de l'espèce : *Platismatia glauca*.

Tests aux réactifs





A) Aspect morphologique du thalle (macro et microscopique)

Figure 20. *Platismatia glauca*. A) Aspect morphologique du thalle. B) Tests chimiques

1.1.5. Espèce N°10. *Xanthoria parietina*

L'examen morphologique de l'espèce *Xanthoria parietina* (figure 22) montre un thalle foliacé, de différente taille (jusqu'à 20 cm, voire plus), à lobes plats, arrondis, bien appliqués au substrat, d'environ 7 mm de large à la marge du thalle, de couleur jaune orangé à jaune verdâtre à l'ombre (lorsque l'intensité lumineuse est faible et ne nécessite pas la fabrication de pigments caroténoïdes protecteurs pour les algues). La face inférieure du thalle est presque blanche avec des rhizines éparses, simples. Les apothécies de cette espèce sont généralement nombreuses vers le centre du thalle, de disque orangé d'environ 4 mm et à rebord jaune, devenant un peu crénelé avec l'âge. *Xanthoria parietina* une espèce commune, très fréquente dans le parc national de Djurdjura et assez résistante qui semble qui se développe sur tout type de substrat comme les roches acides ou calcaires, écorces, bois, etc. Les tests chimiques effectués (figure 21) décèlent une réaction positive avec l'hydroxyde de potassium et le lugol et négative avec Hypochlorite de sodium (K+ rouge pourpre, C-, I+ vert)

Systématique de l'espèce identifiée

Règne : *Fungi*

Embranchement : *Ascomycota*

Classe : *Lecanoromycetideae*

Ordre : *Teloschistales*

Famille : *Teloschistaceae*

Genre *Xanthoria*

Nom binomial de l'espèce : *Xanthoria parietina*.

Tests aux réactifs

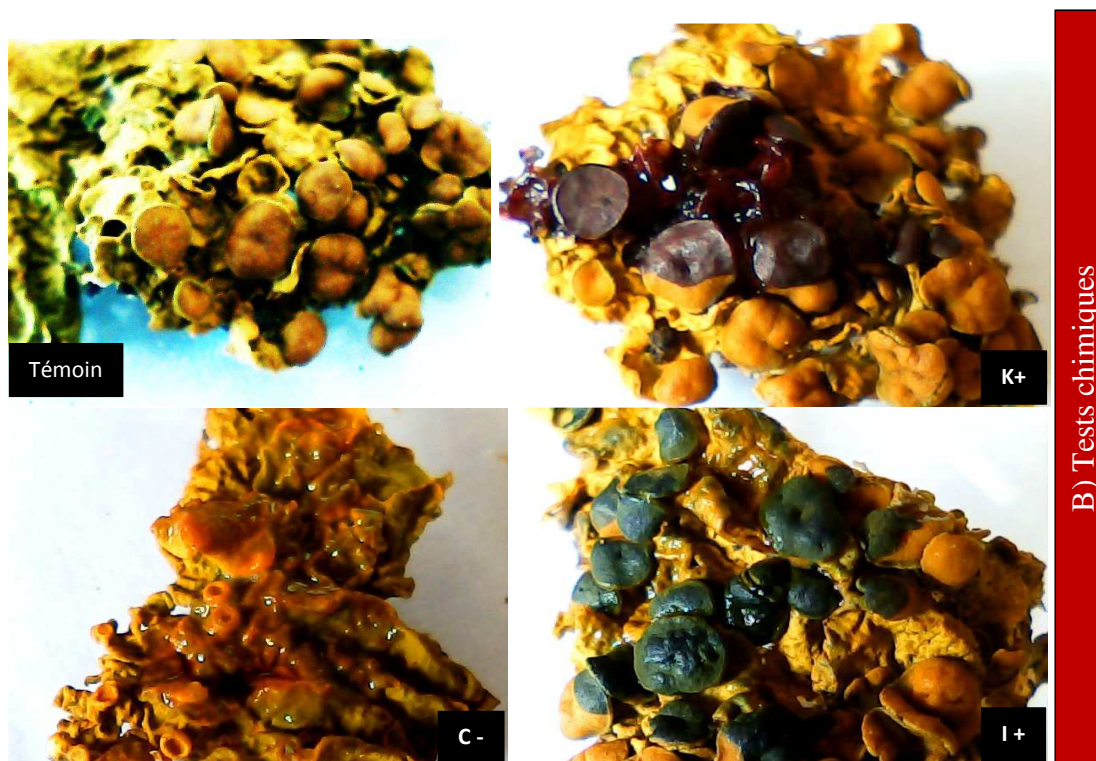


Figure 21. . Tests chimiques du thalle de *Xanthoria parietina*



A) Aspect morphologique du thalle (macro et microscopique)

Figure 22. Aspect morphologique (examen macro et microscopique) du thalle de *Xanthoria parietina*

1.1.6. Espèce N°18. Lichen non identifié

Les différentes tentatives personnelles pour l'identification de cette espèce n'ont pas donné de fruits. Par rigueur scientifique, il est donc nécessaire, pour faire une identification précise de cette espèce, de pousser les analyses phytochimiques d'avantage et de consulter l'avis d'un spécialiste en la matière. Néanmoins, l'examen de l'aspect morphologique de ce lichen (figure 23) révèle un thalle d'allure foliacée, qui peut atteindre une dizaine de centimètre de diamètre et à marge entière à sublobulée, de couleur marron plus ou moins uniforme. Il a été échantillonné sur les branches d'arbres brisées.



Figure 23. Aspect morphologique du thalle de l'espèce non identifiée n°18.

1.2. Etude de l'activité antimicrobienne des extraits lichéniques

1.2.1. Efficacité des extraits sur milieu gélosé (technique de diffusion standard)

La méthode de diffusion pratiquée dans le cadre de notre étude, nous a permis d'obtenir, pour les différents extraits lichéniques, les résultats mentionnés dans les tableaux 3, 4, 5 et 6 où nous avons mentionnée le diamètre de la zone d'inhibition des sept souches étudiées. Les résultats obtenus varient significativement en fonction de trois paramètres à savoir : les espèces lichéniques choisi, la méthode d'extraction pratiquée ainsi que la nature des germes soumis aux tests.

1.2.1.1. Les extraits acétoniques

L'étude de l'efficacité antimicrobienne des extraits acétoniques des différentes espèces lichéniques montre une faible diffusion pour tous les échantillons. En effet, le tableau 3 révèle une faible sensibilité envers l'extrait de l'espèce *Pseudovernia furfuracea*. Seule la forme sensible de *Staphylococcus aureus* et *Salmonella* ont présenté des zones d'inhibition de $0,233 \pm 0,208$ et $0,133 \pm 0,115$ cm, respectivement. Aucune autre zone d'inhibition n'a été mise en évidence pour les autres bactéries. Pour les extraits de *Lobaria virens* et *Lepraria elobata* seule *E-coli* semble être sensible. Les moyennes des zones d'inhibition obtenues oscillent entre $0,267 \pm 0,115$ et $0,3 \pm 0,1$ cm, pour les extraits des deux espèces respectivement. En ce qui concerne *Palatismatia glauca* et *Xanthoria parietina*, les résultats obtenus montrent qu'elles ont toutes les deux une efficacité sur la forme résistante de *Staphylococcus aureus* ($0,2 \pm 0,173$ et $0,467 \pm 0,115$ cm, respectivement) et *Salmonella* ($0,1 \pm 0,10$ et $0,3 \pm 0,265$ cm, respectivement). Il semble également que les *Proteus* sont aussi sensibles envers l'extrait de *Xanthoria parietina* ($0,333 \pm 0,288$ cm). Quant à l'espèce non identifier N°18 les analyses révèlent une efficacité sur les *Staphylococcus aureus* quel que soit la forme de la bactérie avec des moyennes de $0,433 \pm 0,115$ cm pour la forme sensible et $0,3 \pm 0,265$ cm pour la forme résistante

1.2.1.2. Les extraits de l'éther de pétrole

Le tableau n 4, récapitule les résultats des différents tests d'efficacité effectués sur les métabolites secondaires extraits par l'éther de pétrole. Les résultats obtenus montrent que l'extrait de *Lobaria virens* montre une efficacité modérée sur *E-coli*, *Serratia* et *Proteus*. Les zones d'inhibition enregistrés sont $0,1 \pm 1,7 E^{-17}$, $0,2 \pm 3,4 E^{-17}$ et $0,2 \pm 3,4 E^{-17}$ cm, respectivement. De même, l'extrait de l'espèce *Palatismatia glauca* semble affecter aussi bien *E-coli*, ($0,2 \pm 3,4 E^{-17}$ cm) que la forme résistante de *Staphylococcus aureus* ($0,1 \pm 1,7 E^{-17}$ cm). Pour *Xanthoria parietina*, seule les *Salmonelles* et les *Proteus* présentent une sensibilité relative à l'extrait. Ces deux germes semblent au contraire résistants à l'extrait de l'espèce N°18 qui a affecté la croissance de toutes les autres bactéries

1.2.1.3. Les extraits de l'éther diéthylique

Le tableau n°5 récapitule les résultats des combinaisons entre les métabolites des différentes espèces, obtenus par l'éther diéthylique, et les sept souches bactériennes soumises à l'expérience. Il paraît clairement, selon les valeurs obtenues, que les zones d'inhibition enregistrées sont relativement faibles. Les tests effectués sur les extraits de *Pseudovirnia furfuracea* décèlent une zone de $0,2 \pm 3,4E^{-17}$ cm aussi bien sur la forme sensible des *Staphylococcus* que sur les *Klebsiella* ; alors que les autres germes se sont montrés résistants à cet extrait. Pour l'extrait de *Lobaria virens*, seulement les deux espèces *E-coli* et *Serratia* ont présenté une sensibilité avec $0,2 \pm 3,4E^{-17}$ et $0,3 \pm 0,265$ cm. En ce qui concerne *Platismatia glauca*, les résultats obtenus montrent que *E-coli* et *Salmonella* ont une très faible zone d'inhibition soit $0,067 \pm 0,058$ et $0,1 \pm 0,173$ cm respectivement. Cependant, les *Proteus* semblent plus sensibles à cet extrait affichant une zone d'inhibition de $0,367 \pm 0,321$ cm. Les métabolites de *Xanthoria parietina* semblent très faiblement efficaces sur tous les germes, seule *E-coli* a montré une zone d'inhibition de $0,1 \pm 0,173$ cm. Quant à l'extrait de l'espèce non identifiée N°18, deux germes seulement ont montré une sensibilité. Il s'agit de *Serratia* et *Salmonella* qui ont révélé un diamètre d'inhibition très faible inférieur à 0,2 cm.

1.2.1.4. Les extraits éthanoliques

Les résultats des différents tests que nous avons réalisés pour visualiser l'efficacité des extraits éthanoliques sur l'ensemble des souches sélectionnées sont récapitulés dans le tableau n°6. L'examen de ce dernier révèle que les extraits éthanoliques sont quasi inefficaces sur, pratiquement, toutes les bactéries, et ce quel que soit l'espèce lichénique considérée. Néanmoins, nous avons enregistré une très faible activité antimicrobienne des métabolites de *Pseudovirnia furfuracea* sur *Serratia* ainsi que ceux de l'espèce N°18 sur la forme résistante de *Staphylococcus*. Les valeurs enregistrées dans ces deux cas sont $0,167 \pm 0,289$ et $0,2 \pm 0,2$ respectivement.

Tableau 04. Zones d’inhibition de la croissance bactérienne obtenues sur gélose par les extraits de l’Ether de pétrole des différentes espèces lichéniques

	E .coli			Staph R			Staph S			Serratia			Salmonella			Klebsiella			Proteus		
	∅	\bar{X}	σ^2	∅	\bar{X}	σ^2	∅	\bar{X}	σ^2	∅	\bar{X}	σ^2	∅	\bar{X}	σ^2	∅	\bar{X}	σ^2	∅	\bar{X}	σ^2
Espèce n° 1	-			-			-			-			-			-			-		
Espèce 3	0,3	0,100	0,173	0			0			0,2	0,200	3,4E-17	0			0			0,2	0,200	3,4E-17
	0			0	0	0,2	0	0,2													
	0			0	0	0,2	0	0,2													
Espèce 7	0,2	0,200	3,4 E-17	0,1	0,100	1,7 E-17	0			0			0			0			0		
	0,2			0,1			0	0	0	0											
	0,2			0,1			0	0	0	0											
Espèce 10	0			0			0			0			0,2	0,233	0,058	0			0,3	0,233	0,058
	0	0	0	0	0,3	0	0,2														
	0	0	0	0	0,2	0	0,2														
Espèce 18	0,2	0,200	0,200	0,2	0,200	3,4 E-17	0,3	0,400	0,100	0,2	0,200	3,4E-17	0			0,2	0,200	3,4E-17	0		
	0,4			0,2			0,5			0,2			0	0,2							
	0			0,2			0,4			0,2			0	0,2							
Témoin	0,1	0,033	0,058	0			0			0			0			0			0		
	0			0	0	0	0	0													
	0			0	0	0	0	0													

Remarque : L’extrait de *Pseudovernia furfuracea* (espèce n°1) a été perdu lors des manipes, nous n’avons donc, pas représenté les résultats sur le tableau

Tableau 05. Zones d’inhibition de la croissance bactérienne obtenues sur gélose par les extraits de l’Ether diéthylique des différentes espèces lichéniques

	E .coli			Staph R			Staph S			Serratia			Salmonella			Klebsiella			Proteus				
	∅	\bar{X}	σ^2	∅	\bar{X}	σ^2	∅	\bar{X}	σ^2	∅	\bar{X}	σ^2	∅	\bar{X}	σ^2	∅	\bar{X}	σ^2	∅	\bar{X}	σ^2		
Espèce n° 1	0			0			0,2	0,200	3,4E-17	0			0			0,2	0,200	3,4E-17	0				
	0			0			0,2			0			0			0,2			0				
	0			0			0,2			0			0			0,2			0				
Espèce 3	0,2	0,200	3,4E-17	0			0			0,5	0,300	0,265	0			0			0				
	0,2			0			0			0,4			0			0			0				
	0,2			0			0			0			0			0			0				
Espèce 7	0,1	0,067	0,058	0			0			0			0,3	0,100	0,173	0			0,6	0,367	0,321		
	0,1			0			0			0			0			0			0,5				
	0			0			0			0			0			0			0				
Espèce 10	0,3	0,100	0,173	0			0			0			0			0			0				
	0			0			0			0			0			0			0				
	0			0			0			0			0			0			0				
Espèce 18	0			0			0			0,5	0,167	0,289	0,2			0,100	0,100	0			0		
	0			0			0			0			0,1					0			0		
	0			0			0			0			0					0			0		
Témoins	0			0			0			0,1	0,033	0,058	0			0,1			0,033	0,058	0		
	0			0			0			0			0			0					0		
	0			0			0			0			0			0					0		

Tableau 06. Zones d’inhibition de la croissance bactérienne obtenues sur gélose par les extraits éthanoliques des différentes espèces lichéniques

	E .coli			Staph R			Staph S			Serratia			Salmonella			Klebsiella			Proteus				
	∅	\bar{X}	σ	∅	\bar{X}	σ	∅	\bar{X}	σ	∅	\bar{X}	σ	∅	\bar{X}	σ	∅	\bar{X}	σ	∅	\bar{X}	σ		
Espèce n° 1	0			0			0			0,5	0,167	0,289	0			0			0				
	0			0			0			0			0			0			0				
	0			0			0			0			0			0			0				
Espèce 3	0			0			0			0			0			0			0				
	0			0			0			0			0			0			0				
	0			0			0			0			0			0			0				
Espèce 7	0			0			0			0			0			0			0				
	0			0			0			0			0			0			0				
	0			0			0			0			0			0			0				
Espèce 10	0			0			0			0			0			0			0				
	0			0			0			0			0			0			0				
	0			0			0			0			0			0			0				
Espèce 18	0			0,4	0,200	0,200	0			0			0			0			0				
	0			0,2			0			0			0			0							
	0			0			0			0			0			0							
Témoin	0			0,1	0,033	0,058	0			0,1	0,067	0,058	0,1	0,067	0,058	0			0				
	0			0			0			0,1			0,1			0			0				
	0			0			0			0			0			0			0				

1.2.2. Efficacité des extraits lichéniques sur milieu liquide

La méthode de diffusion standard pratiquée dans ce travail pour l'étude de l'efficacité des différents extraits lichéniques a révélé des zones d'inhibitions relativement faibles, suggérant ainsi un problème dans la diffusion des métabolites dans la gélose Mueller-Hinton. Pour cela, nous avons pensé à mettre les métabolites préalablement extraits et dépourvus de solvants directement en contact avec les germes dans un milieu de culture liquide. Les résultats obtenus se sont révélés extrêmement intéressants. En effet, malgré la très faible concentration en métabolites utilisée dans les extraits testés, l'efficacité antibactérienne enregistrée était très significative ; affichant, dans certains cas, une réduction de la croissance bactérienne d'environ 50%. En sus, certains extraits qui n'avaient pas présenté des zones d'inhibitions dans la première méthode, ont montré, avec cette méthode, une activité antimicrobienne avérée suggérant un problème de diffusion. D'autre part, les résultats obtenus par cette méthode nous ont révélé des effets totalement inattendus des extraits lichéniques. En effet, une stimulation remarquable de la croissance bactérienne a été mise en évidence suite à l'addition de certains extraits. Ces résultats, évoquent une probable utilisation de certains métabolites comme source d'énergie ou comme stimulateurs de la croissance par les bactéries.

1.2.2.1. Activité biologique de l'espèce *Pseudovernia furfuracea*

A) Efficacité de l'extrait éthanolique

L'analyse des résultats présentés dans la figure 24 A et 25, montre que les métabolites secondaires extraits par l'éthanol agissent négativement sur la multiplication bactérienne d'*E-coli* (réduction de 7% environ par rapport à la normale) et les *Staphylococcus aureus* en forme sensible et résistante (-10.92% et -13.10%). Cependant, ce même extrait stimule de manière différentielle la croissance des autres germes testés à savoir : *Salmonella* (+17.32%), *Klebsiella* (+12.5%), *Proteus* (+5.66%) et *Serratia* (+2.62%).

B) Efficacité de l'extrait de l'éther diéthylique

Les métabolites de *Pseudovernia furfuracea* obtenus par l'éther diéthylique agissent différemment sur les bactéries étudiées que l'extrait précédent (figure 24B et 25). Ils inhibent significativement la croissance des *Staphylococcus aureus* (-18.98%) sensible et les *Salmonella* (-17.65 %) de façon moindre celle des *Proteus* (-3% environ) et la forme résistante de *Staphylococcus aureus* (-2% environ). Cependant, on assiste en contre partie à une stimulation de la croissance d'*E-coli* (+3.97%) *Serratia* (+7.64%) et *Klebsiella* (+14.31%) par cet extrait.

C) Efficacité de l'extrait acétonique

La figure 24C et 25) récapitule l'efficacité des métabolites de l'espèce *Pseudovernia furfuracea* extraits par l'acétone sur les différentes bactéries. Une réduction d'environ 23 et 24 % de la croissance bactérienne a été enregistrée chez les *Proteus* et la forme sensible de *Staphylococcus aureus*, successivement. En revanche, une très forte stimulation de la croissance bactérienne, évaluée d'environ 100.38 % par rapport au témoin, a été mise en évidence chez *Klebsiella*. D'autres augmentations ont également été enregistrées chez *Serratia*, *Staphylococcus* en forme résistante ainsi que *E-coli*. Cependant, la croissance de *Salmonella* semble identique à la normale.

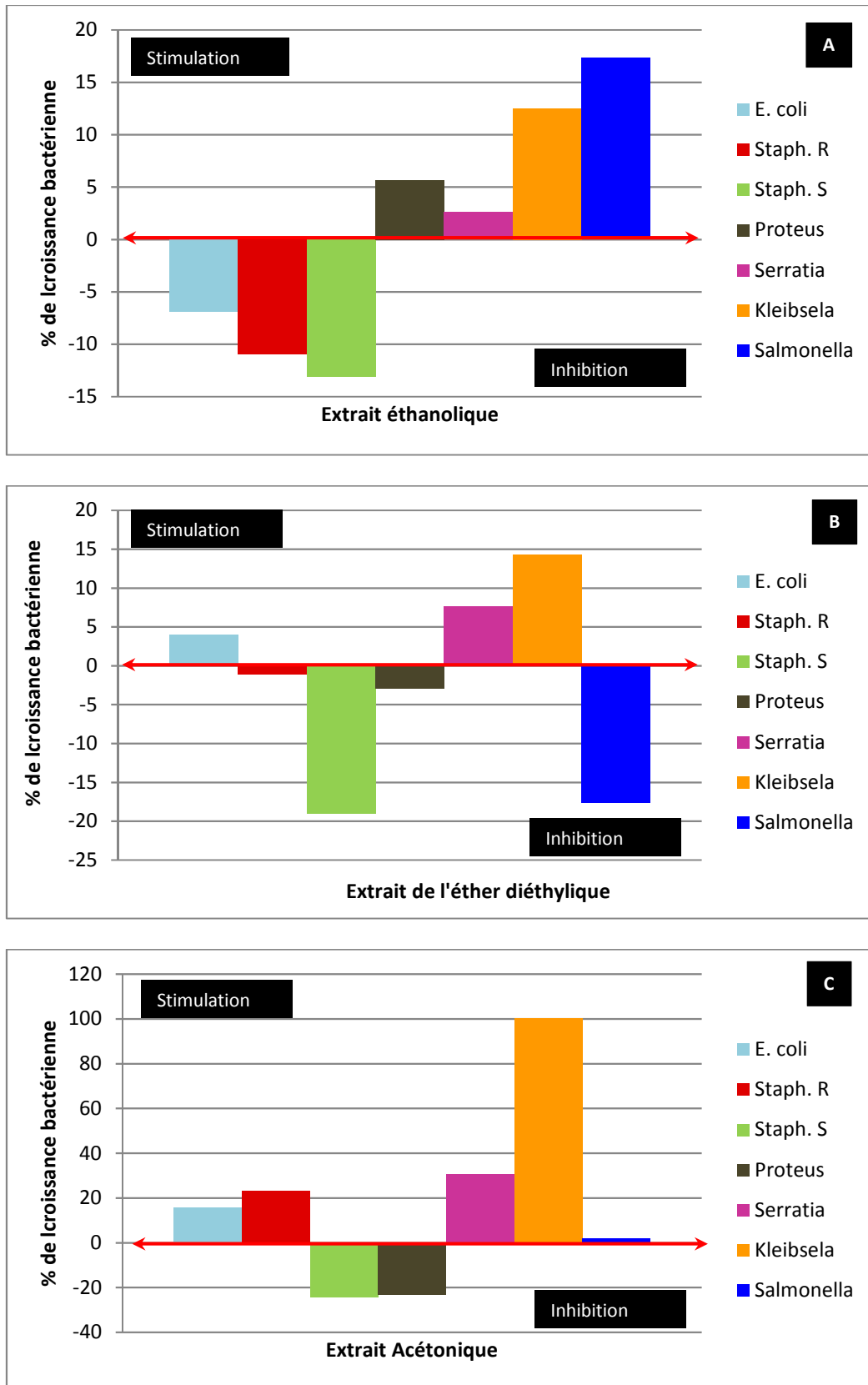


Figure 24. Taux de stimulation et d'inhibition de la croissance bactérienne par les extraits de l'espèce *Pseudovernia furfuracea*. A) L'extrait éthanolique. B) L'extrait de l'éther diéthylique. C) L'extrait acétonique

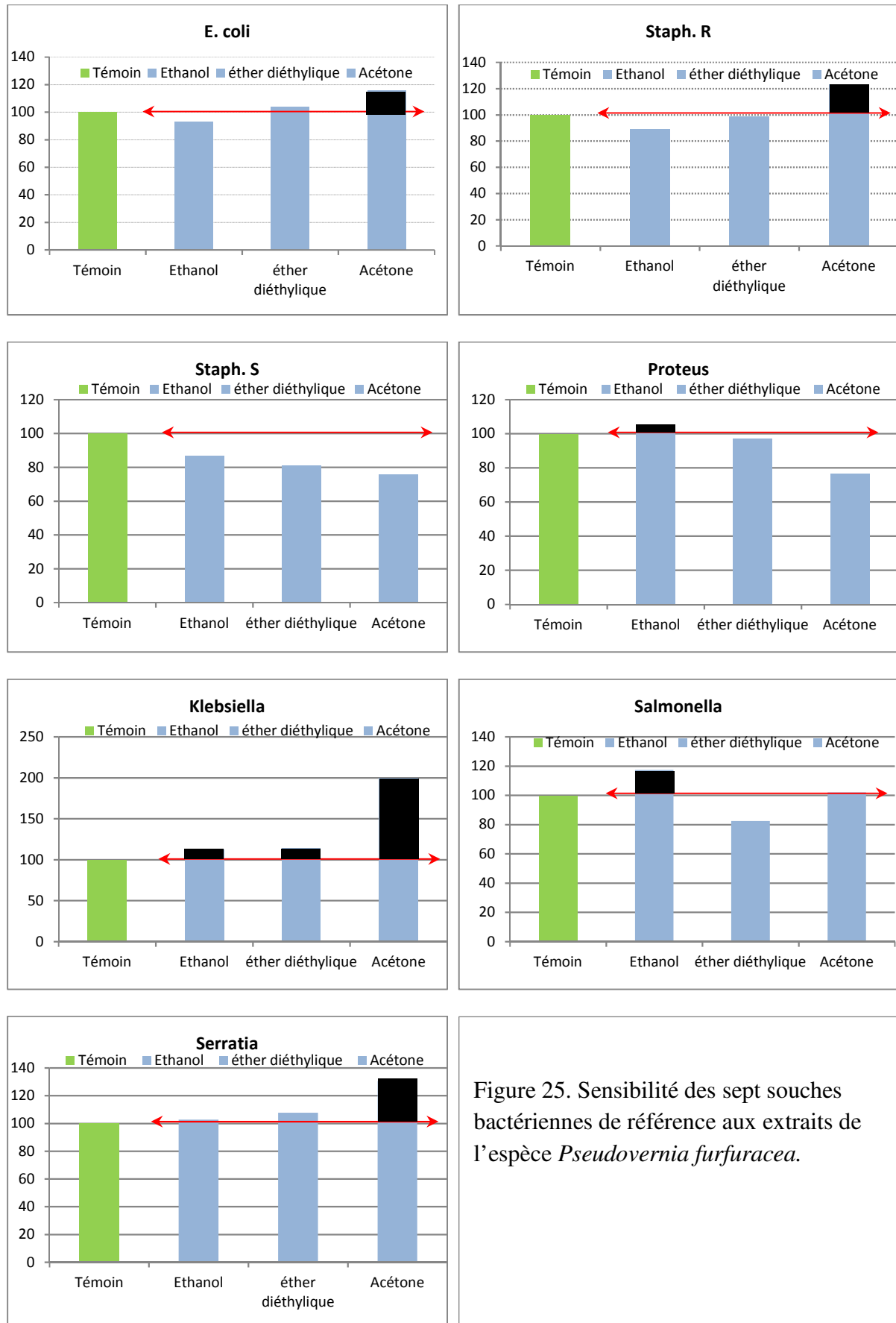


Figure 25. Sensibilité des sept souches bactériennes de référence aux extraits de l'espèce *Pseudovernia furfuracea*.

1.2.2.2. Activité biologique de l'espèce *Lobaria virens*

A) Efficacité de l'extrait éthanolique

L'examen de la figure 26A ainsi que la figure 27, montrant l'efficacité de l'extrait éthanolique sur les différentes souches bactériennes, révèle une inhibition de la multiplication de cinq germes pathogènes à savoir : *Staphylococcus* sous ses deux formes (sensible et résistante), *E-coli*, *Proteus* et *Klebsiella*. Le taux de cette inhibition oscille entre 6 et 20% environ, par rapport au témoin. En revanche, cette même figure montre une stimulation de la croissance bactérienne chez *Salmonella* et *Serratia*, avec une augmentation de 21 et 53 % environ, respectivement.

B) Efficacité de l'extrait de l'éther diéthylique

Les métabolites secondaires extraits avec l'éther diéthylique ont également une efficacité sur les bactéries étudiées (figure 26 B). Cette efficacité varie considérablement selon la nature des souches (figure 27). En effet, ils inhibent significativement la croissance de *Salmonella* (43.75%) ainsi que les *Proteus* (10.03%) et les *Staphylococcus* sous ses deux formes, sensible (12.7%) et résistante (5.85%). Cependant, les résultats obtenus montrent en revanche que la croissance de *Klebsiella* (39.87%) et *Serratia* (16.5%), a été stimulée par cet extrait. Ce dernier, ne semble avoir aucun effet sur *E-coli*.

C) Efficacité de l'extrait acétonique

Les substances extraites par l'acétone chez *Lobaria virens* semblent avoir un effet considérablement stimulateur de la croissance, notamment pour *Klebsiella* et *Serratia*, où nous avons enregistré des taux de croissance de 212.21% et 202.27% soit 112.21% et 102.27 % de plus par rapport à la normale (figure 26 C). Nous avons enregistré aussi une augmentation de +23.29% et +17.32% respectivement chez les *Staphylococcus* résistant et les *Salmonella*. Les résultats obtenus montrent cependant, une bactériostase des germes *Proteus* et *E-coli* de -13.24% et -14.45% successivement.

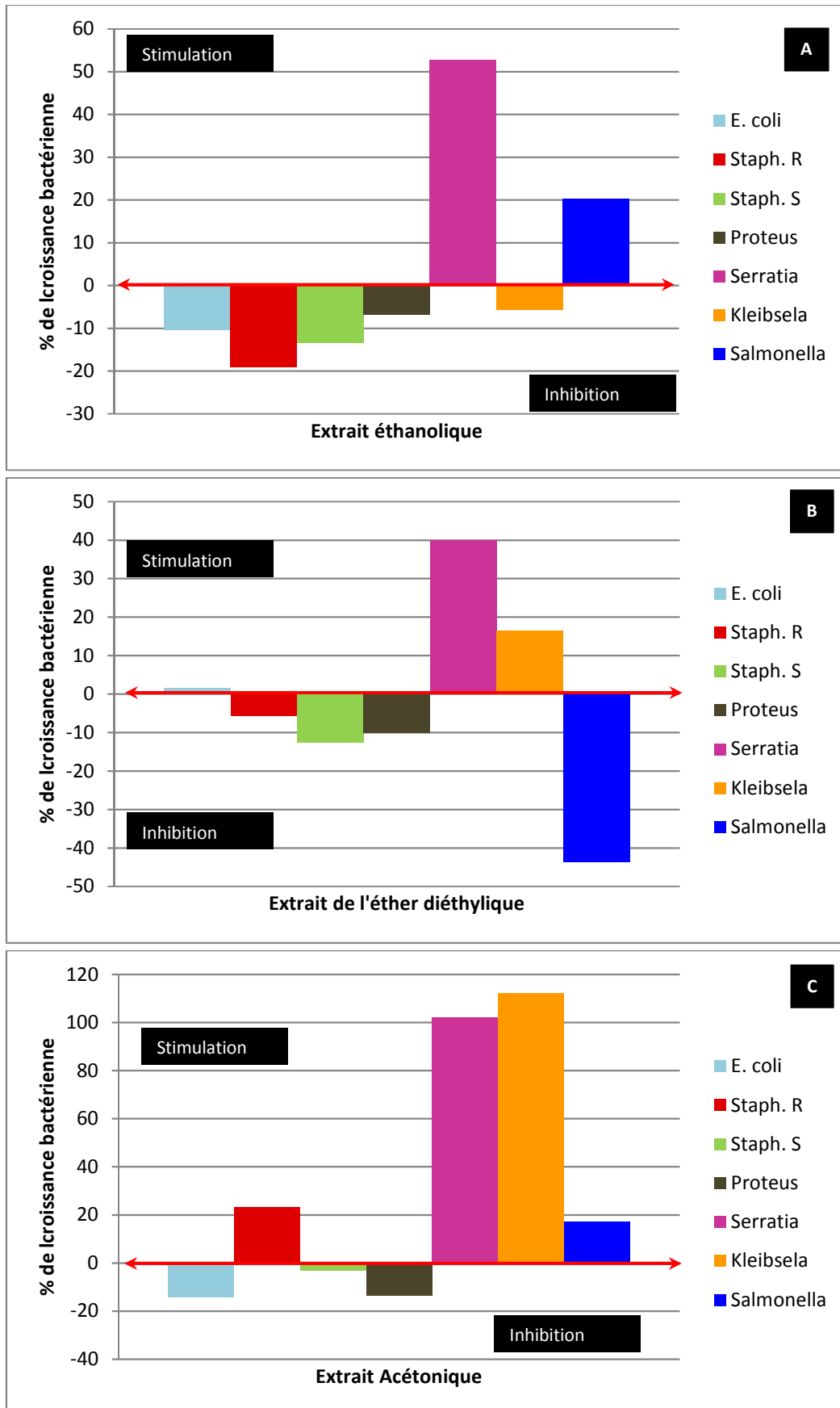


Figure 26. Taux de stimulation et d'inhibition de la croissance bactérienne par les extraits de l'espèce *Lobaria virens*. A) L'extrait éthanolique. B) L'extrait de l'éther diéthylique. C) L'extrait acétonique

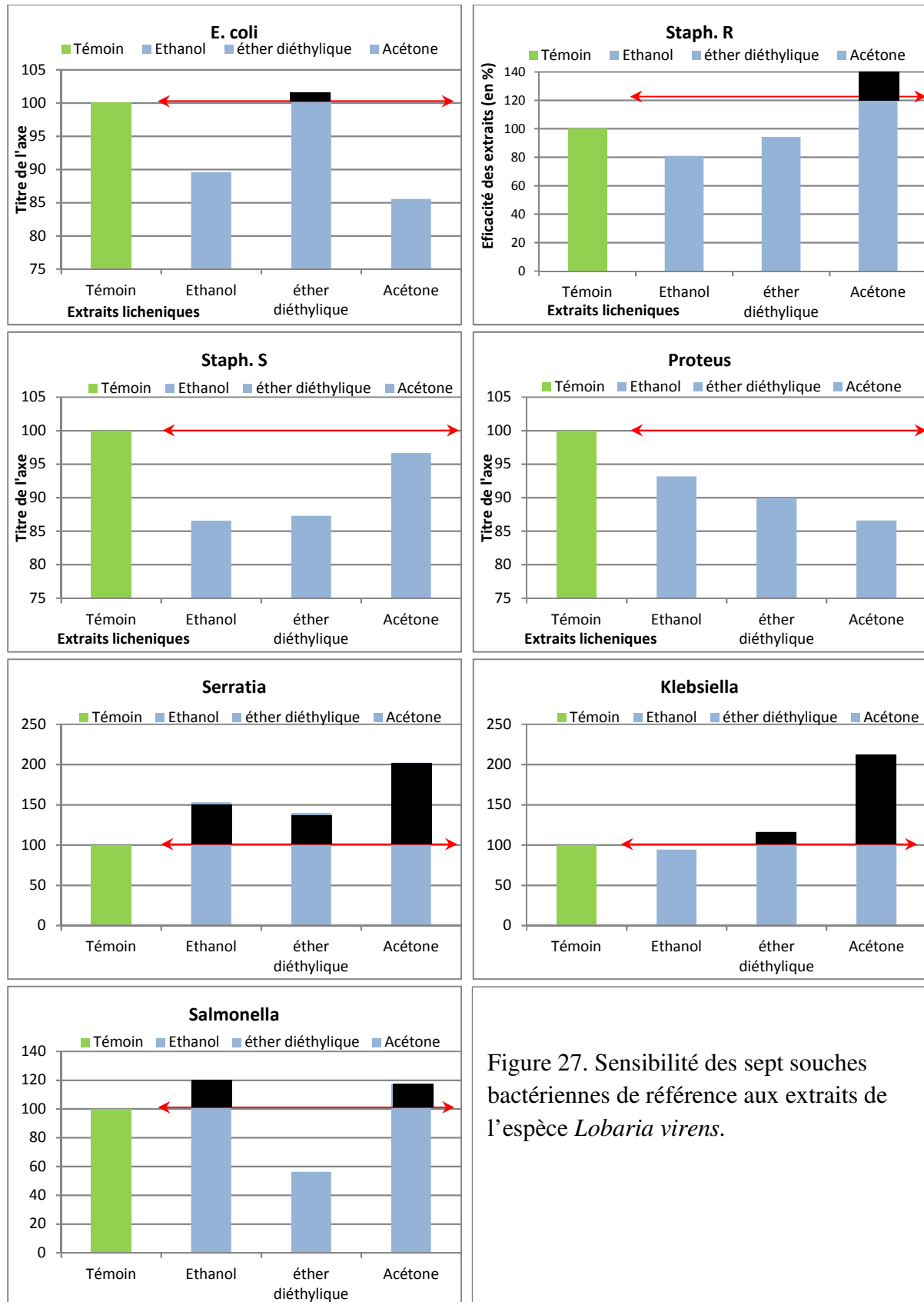


Figure 27. Sensibilité des sept souches bactériennes de référence aux extraits de l'espèce *Lobaria virens*.

1.2.2.3. Activité biologique de l'espèce *Lepraria sp*

Faute de matériel biologique de cette espèce nous n'avons pu, hélas, effectuer qu'une seule extraction des métabolites avec l'acétone. Les résultats des tests de sensibilité des souches bactériennes envers cet extrait, sont récapitulés dans les figures 28 et 29. Cette dernière, montre d'une part, une augmentation hautement significative de la croissance de trois espèces bactériennes à savoir : *Serratia* (+91.15%), *Klebsiella* (+61.64%) et *Salmonella* (+17.10%), et d'autre part, un effet inhibiteur de la croissance des *Proteus* (-20.47%), *E-coli* (-19.1%) et *Staphylococcus* sensible (-10.16%).

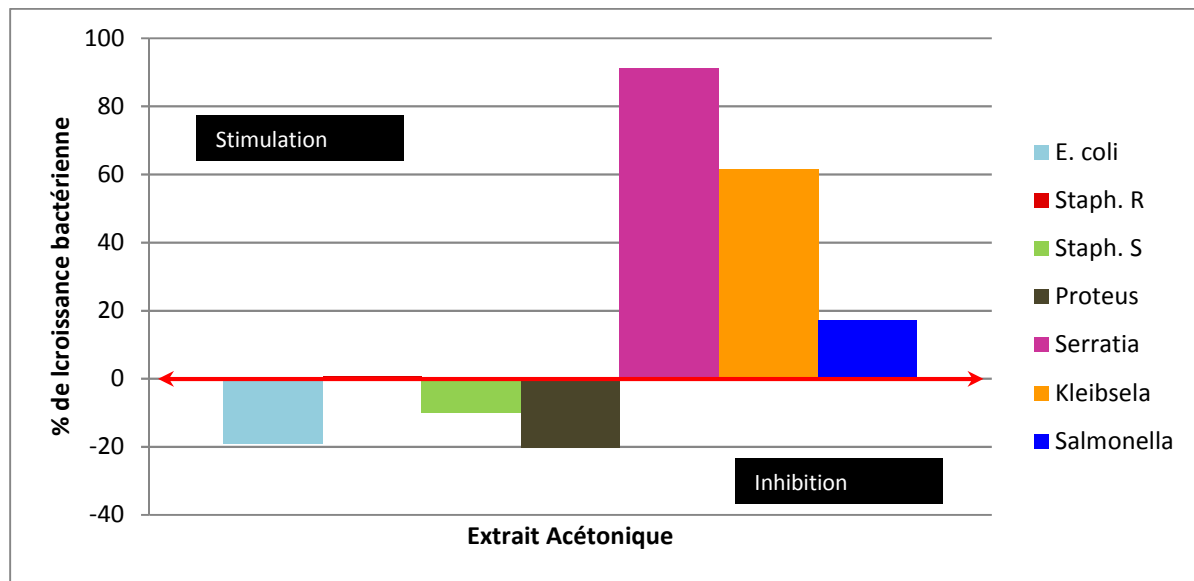


Figure 28. Taux de stimulation et d'inhibition de la croissance bactérienne par l'extrait acétonique de l'espèce *Lepraria sp*.

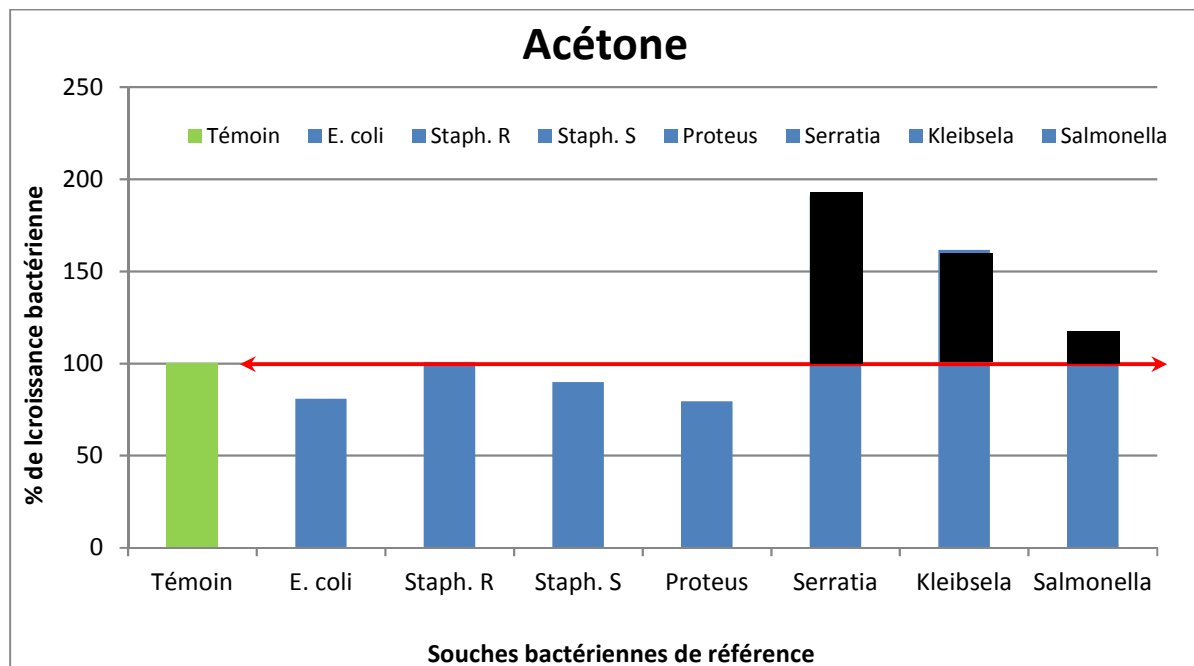


Figure 29. Sensibilité des sept souches bactériennes de référence à l'extrait acétonique de l'espèce *Lepraria sp*.

1.2.2.4. Activité biologique de l'espèce *Palatismatia glauca*

A) Efficacité de l'extrait éthanolique

L'analyse des résultats des tests obtenus par l'extrait éthanolique montre que ce dernier contient des métabolites agissant différemment sur les souches bactériennes choisies (figure 30A et 31). D'une part, nous constatons une réduction hautement significative de la croissance bactérienne des *Proteus* (-50.11%), et les *Staphylococcus résistant* (-37.81%), et à moindre degré chez les *E-coli* (-7.72%) et *Staphylococcus* sensible (-7.04%). Cependant un effet stimulateur de la croissance bactérienne sous l'action des métabolites extraits a été mis en évidence chez *Serratia* (+40.17%), *Klebsiella* (+10.66%).

B) Efficacité de l'extrait de l'éther diéthylique

Le comportement des bactéries exposées à l'extrait éthanolique (figure 30 B) diffère également selon la nature des souches. La croissance de certaines de ces dernières s'accélère significativement. C'est le cas de *Klebsiella* (+22.71%) *Proteus* (+11.63%), *Serratia* (+8.67%) et *Salmonella* (+8.22%) qui ont montré des taux de croissance allant de 108.22% à 122.71% soit une augmentation de +8.22% à +22.71% par rapport à la normale. Cependant, la croissance des autres souches bactériennes qui restent a plutôt été affectée par les métabolites de cet extrait. En effet, une réduction d'environ 11.70% par rapport au témoin a été enregistrée chez la forme résistante des *Staphylococcus*. Cette inhibition elle est relativement faible chez *E-coli* et la forme sensible de *Staphylococcus* évaluée d'environ 5.17% à 5.48%.

C) Efficacité de l'extrait acétonique

Tout comme pour les deux extraits précédents, *Serratia* et *Klebsiella* semblent trouver une source d'énergie dans l'extrait acétonique affichant des taux de croissance de 144.42% et 138.16% respectivement soit une augmentation de plus de +44.42% et +38.16% par rapport au témoin (figure 30 C). Cependant ces mêmes métabolites semblent affecter négativement la croissance des autres bactéries notamment les *Proteus* et la forme sensible de *Staphylococcus* qui ont subi une réduction de 38.76% et 31.28% respectivement et à moindre degré *E-coli* et la forme résistante des *Staphylococcus* avec 14.2% et 8.05% respectivement. Il semble que la *Salmonella* est indifférente envers ces métabolites montrant une croissance identique celle du témoin.

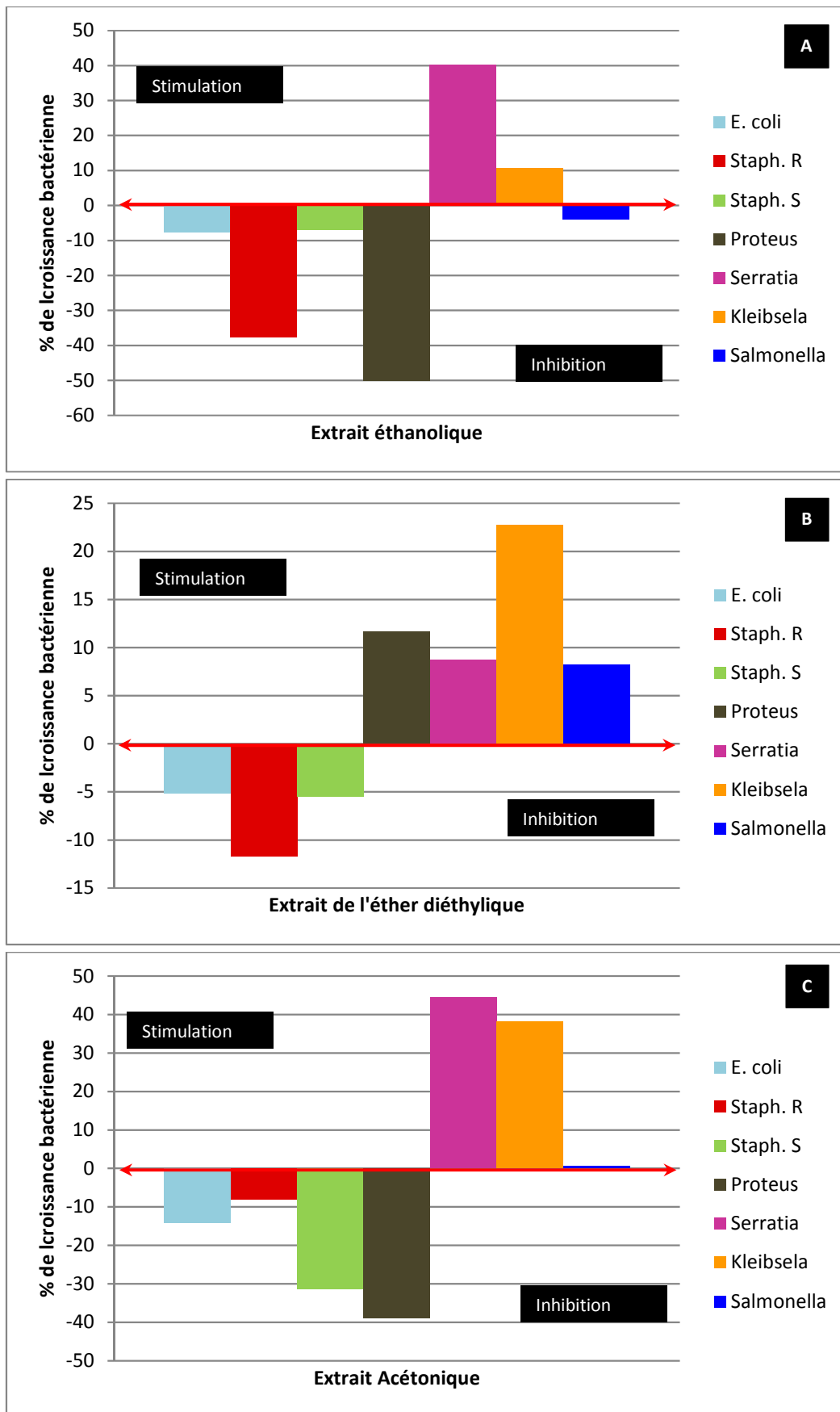


Figure 30. Taux de stimulation et d'inhibition de la croissance bactérienne par les extraits de l'espèce *Cetraria glauca*. A) L'extrait éthanolique. B) L'extrait de l'éther diéthylique. C) L'extrait acétonique

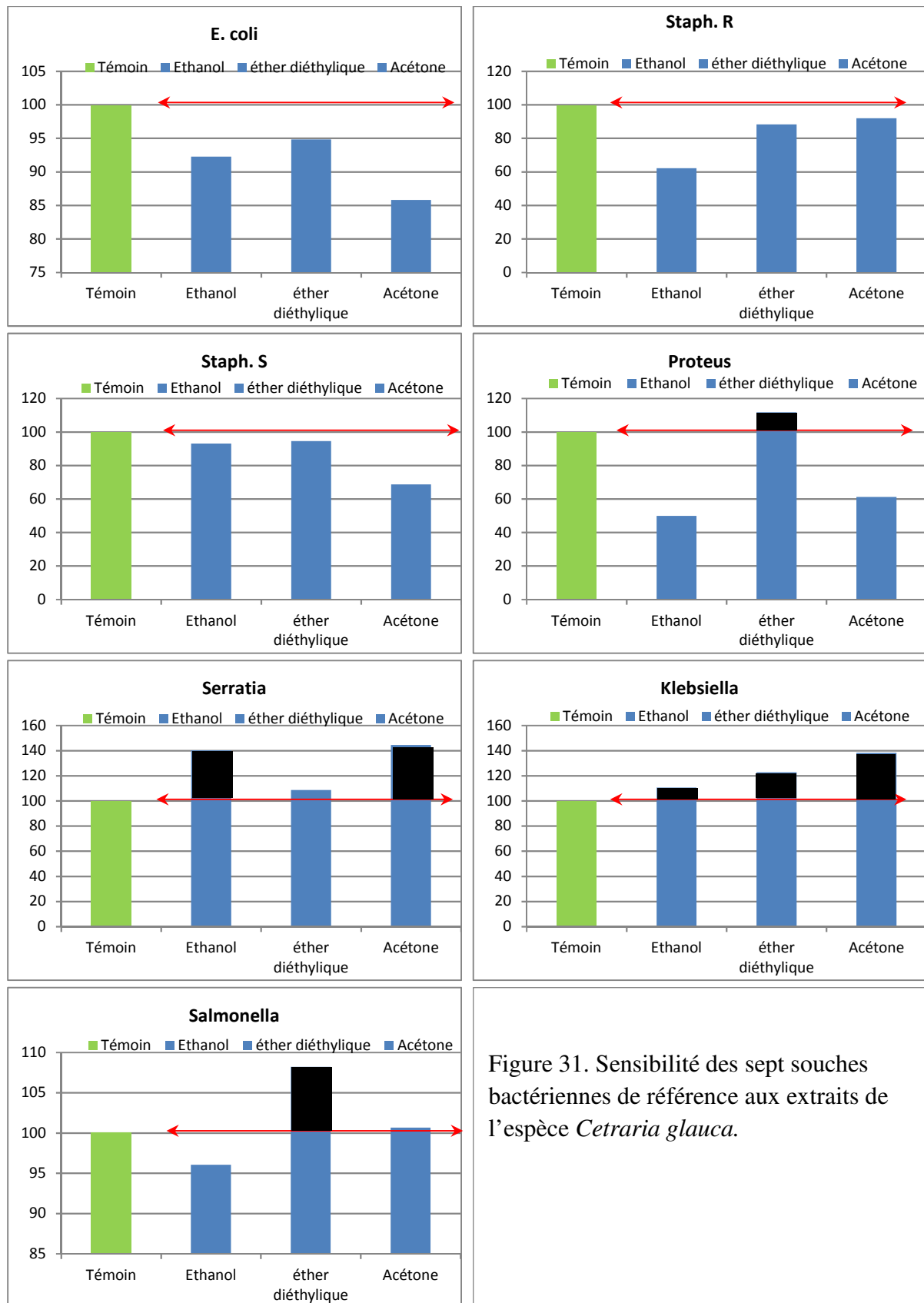


Figure 31. Sensibilité des sept souches bactériennes de référence aux extraits de l'espèce *Cetraria glauca*.

1.2.2.5. Activité biologique de l'espèce *Xanthoria parietina*

A) Efficacité de l'extrait éthanolique

Les métabolites de l'extrait éthanolique de l'espèce *Xanthoria parietina* (figure 32 A et 33) semblent stimuler, d'une part, la croissance des *Klebsiella* (+22.16%), *Serratia* (+19.65%) ainsi que la forme sensible de *Staphylococcus* (+9.42%) et *Salmonella* (+4.78%) ; et inhibent, d'autre part, la multiplication des *Proteus* (-12.61%), *E-coli* (-7.25%) et *Staphylococcus* en forme résistante (-8.48%).

B) Efficacité de l'extrait de l'éther diéthylique

A l'exception des autres extraits, les métabolites de *Xanthoria parietina* obtenus par extraction à l'éther diéthylique semble avoir un effet positif uniquement sur les *Proteus* en stimulant leur croissance à environ 174.25% soit une augmentation de 74.25% par rapport au témoin (figure 32 B et 33). Toutes les autres souches étudiées ont présenté un ralentissement de la croissance cellulaire suggérant un effet bactériostatique. Les valeurs enregistrées sont respectivement de -24.2% et -22.15% pour la forme sensible de *Staphylococcus* et *Salmonella* et de -11.36%, -10% et -7.3% pour les autres bactéries à savoir : *Serratia*, *Staphylococcus* en forme résistante et *E-coli* respectivement.

C) Efficacité de l'extrait acétonique

L'examen des résultats obtenus par l'extrait acétonique, représenté dans la figure 32, montre un profil presque identique à celui obtenu par l'extrait éthanolique de *Xanthoria parietina* sur toutes les souches étudiées à l'exception des *Staphylococcus* sensibles qui ont subi un effet bactériostatique par cet extrait évalué d'environ -25.13% par rapport au témoin. Ainsi, les deux bactéries gram négatif, *Klebsiella* et *Serratia*, montrent toujours une croissance accélérée estimée à 192.36% et 184.1% soit +92.36% et +84.1% par rapport à la normale.

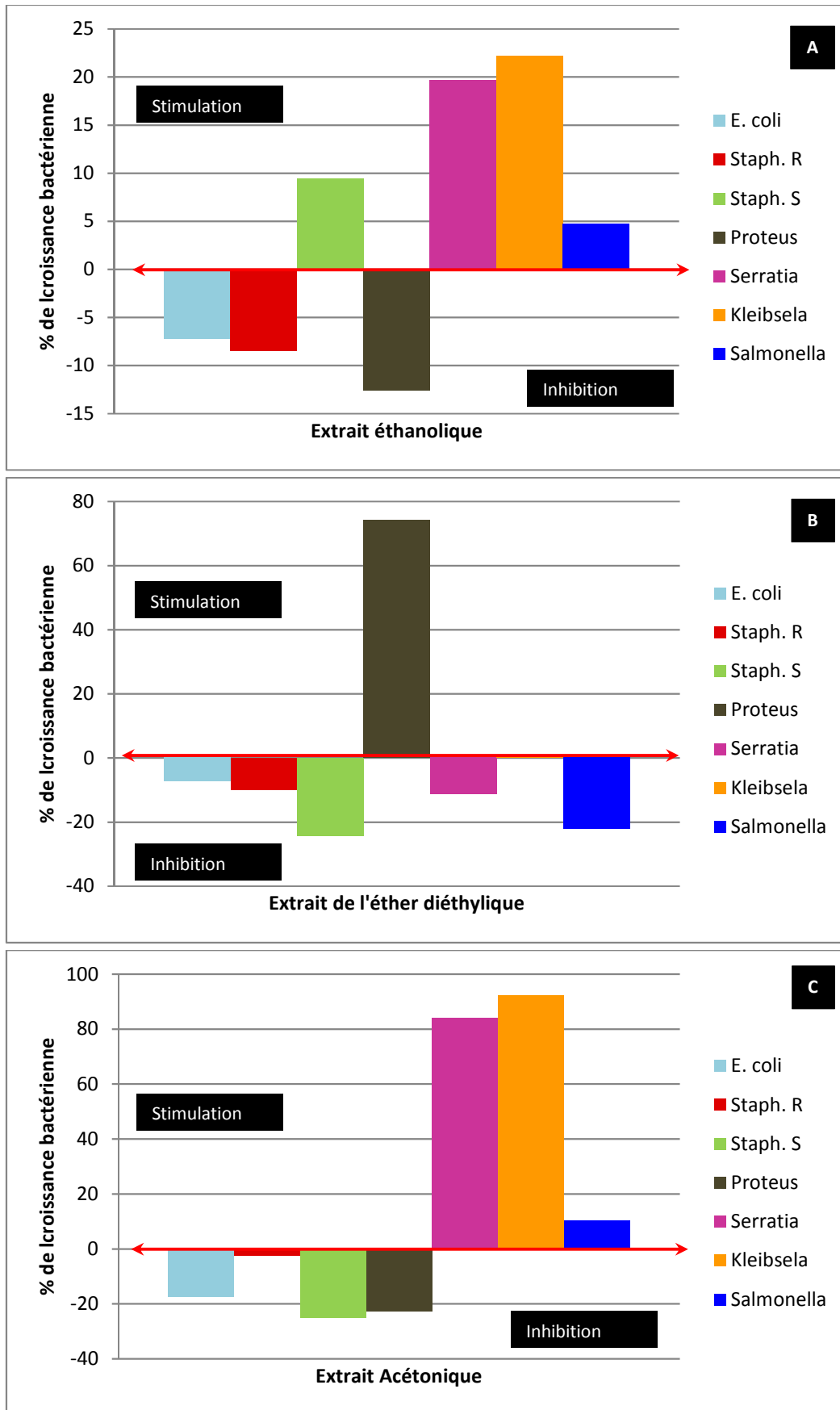


Figure 32. Taux de stimulation et d'inhibition de la croissance bactérienne par les extraits de l'espèce *Xanthoria parietina*. A) L'extrait éthanolique. B) L'extrait de l'éther diéthylique. C) L'extrait acétonique

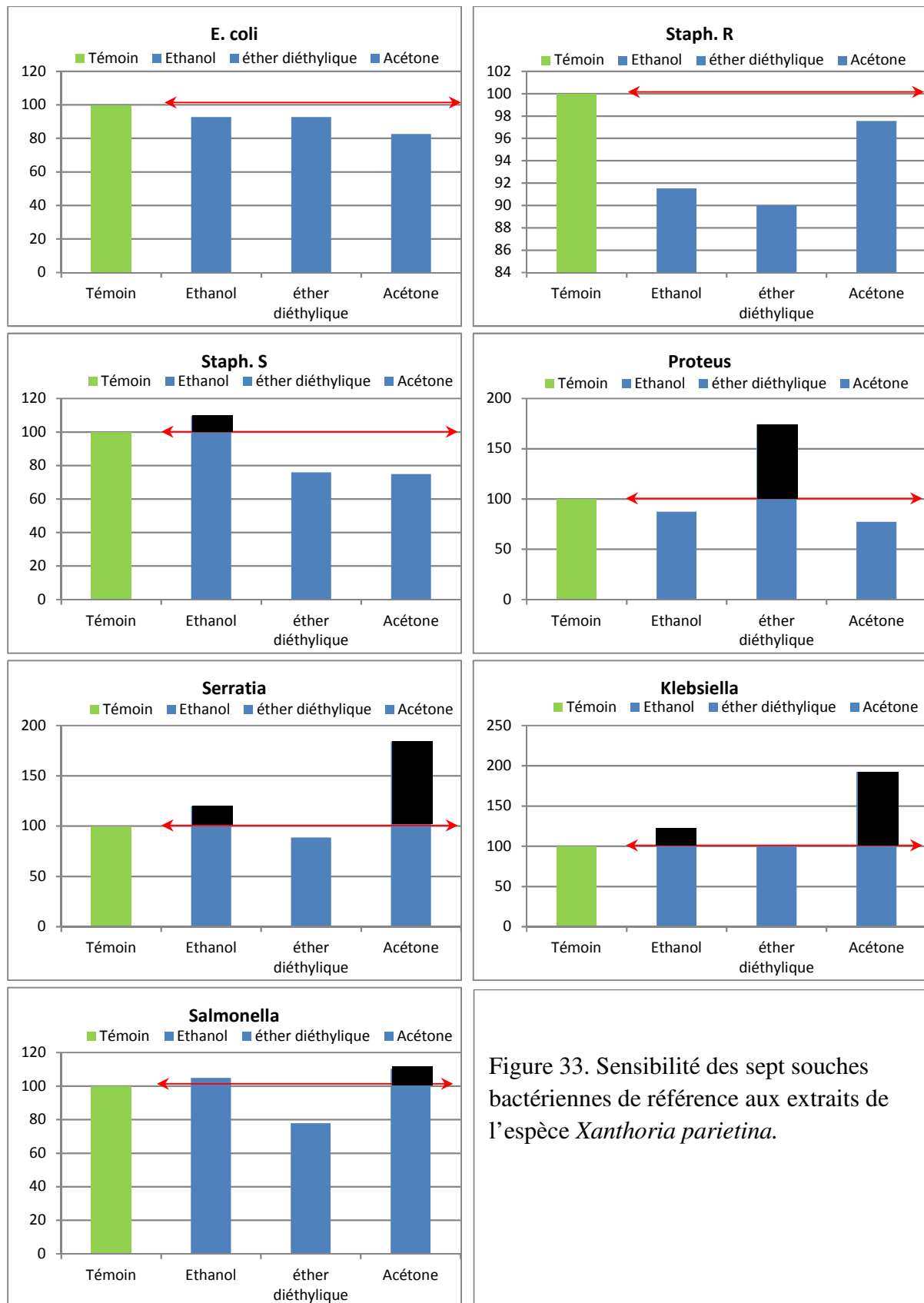


Figure 33. Sensibilité des sept souches bactériennes de référence aux extraits de l'espèce *Xanthoria parietina*.

1.2.2.6. Activité biologique de l'espèce non identifié N°18

A) Efficacité de l'extrait éthanolique

L'examen de la figure n° 34-A, montrant l'efficacité de l'extrait éthanolique de l'espèce N°18 sur les différentes souches bactériennes montre une inhibition et un effet bactériostatique sur la quasi-totalité des espèces, notamment sur *E-coli* (-21.66%) et *Proteus* (-13.09%), et à moindre degrés sur *Salmonella* (-9.85%) et la forme résistante de *Staphylococcus* (-6.22%). Cependant, les variations de croissance observées chez *Klebsiella* et *Serratia* et les *Staphylococcus* sensibles ne nous semblent pas statistiquement significatives.

B) Efficacité de l'extrait de l'éther diéthylique

A l'inverse de l'extrait précédent, les métabolites obtenus par l'éther diéthylique ont tendance à inhiber la croissance des bactéries gram positif, à savoir les *Staphylococcus aureus* avec ses deux formes (figure n° 34 B et 35). L'inhibition de la croissance peut donc atteindre -26.87% pour la forme sensible et -11.1% pour la forme résistante. Un effet bactériostatique relativement faible a également été enregistré sur *E-coli* (-5.83%), *Klebsiella* (-3.81%) et *Salmonella* (-3.50%). Cependant une stimulation de +15.91% de la croissance de la souche *Serratia* a été enregistrée.

C) Efficacité de l'extrait acétonique

L'extrait acétonique de l'espèce N°18 semble avoir un effet bactériostatique avéré sur six souches bactériennes parmi les sept étudiées (figure n° 34 C et 35). Il réduit significativement la croissance des *Staphylococcus* sensibles et les *Proteus* avec une réduction avoisinant les 40%. La croissance d'*E-coli*, *Salmonella*, *Serratia* et les *Staphylococcus* en forme résistante est également affectée. Les résultats obtenus montrent une carence de 24.13%, 19.62%, 15.90% et 10.61% respectivement. La seule bactérie qui a montré un comportement différent c'est *Klebsiella* qui a accéléré sa croissance d'environ 25%.

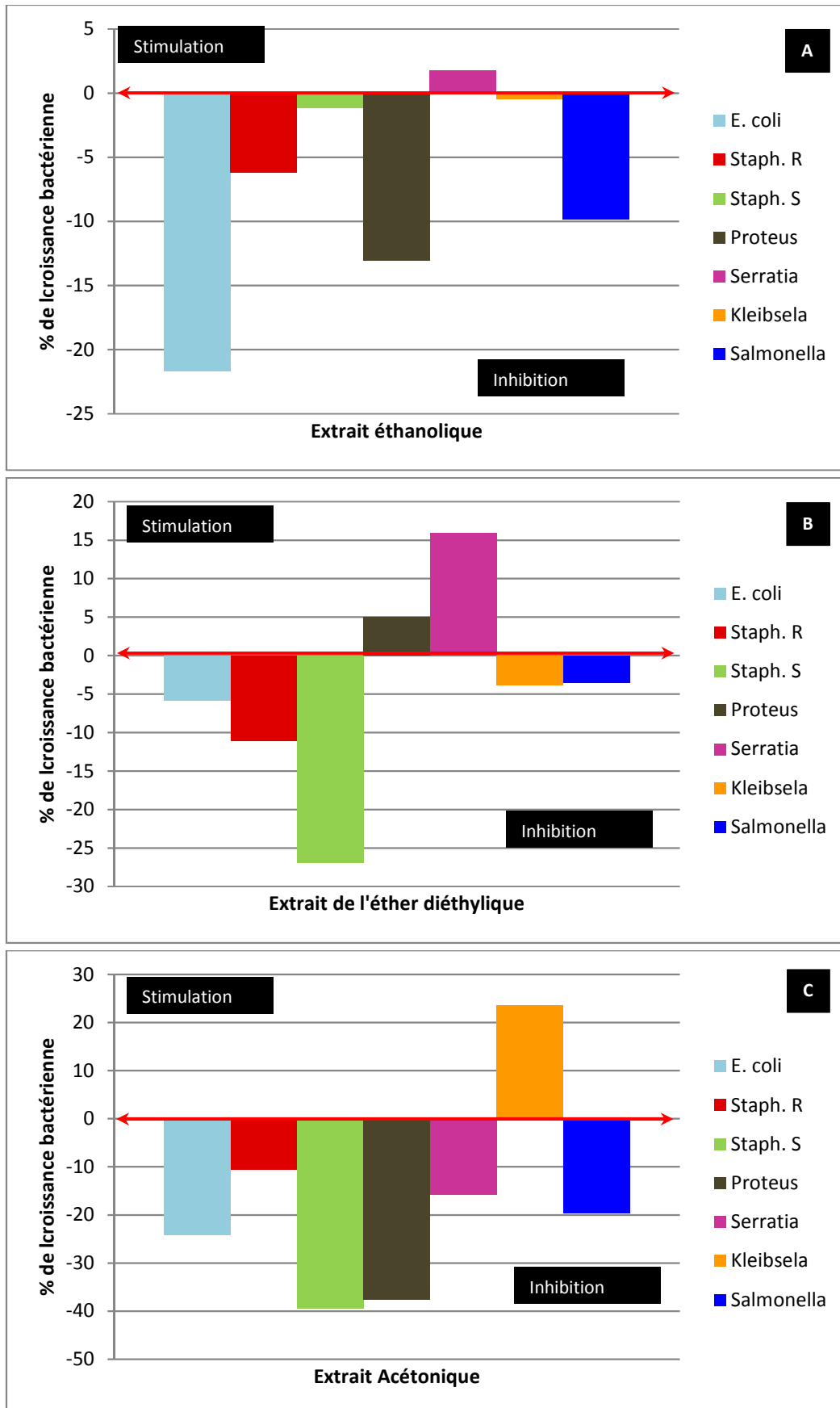


Figure 34. Taux de stimulation et d'inhibition de la croissance bactérienne par les extraits de l'espèce N°18. A) L'extrait éthanologique. B) L'extrait de l'éther diéthylique. C) L'extrait acétonique

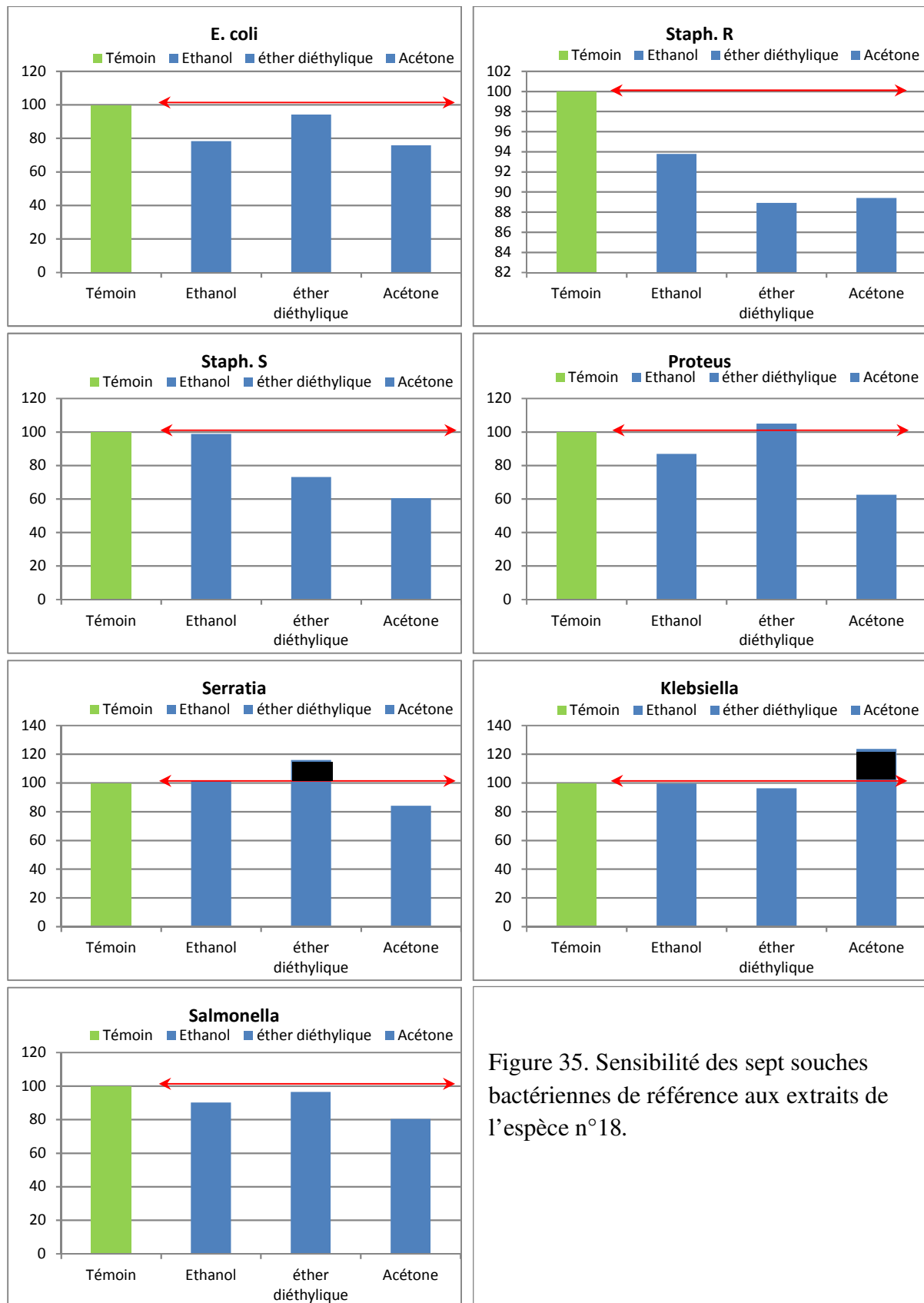


Figure 35. Sensibilité des sept souches bactériennes de référence aux extraits de l'espèce n°18.

1.3. Caractérisation photochimique de *Xanthoria parietina*

Les extraits acétoniques et éthanoliques réalisés sur l'espèce *Xanthoria parietina* ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse (GC-MS). L'objectif de cette analyse était donc de réaliser un screening phytochimique afin de caractériser cette espèce et déterminer les métabolites naturels ayant une activité biologique. En effet, cette analyse permet d'avoir plus de détails sur les molécules en précisant leur taux de présence, leur abondance et surtout une identification basée principalement sur le spectre de masse de la molécule. Les profils chromatographiques des deux extractions sont représentés dans les figures 36 et 37, la composition moléculaire de chaque extrait est consignée dans les tableaux 5 et 6.

1.3.1. Screening phytochimique de l'extrait éthanolique

L'analyse des résultats obtenus par cette extraction a révélé une composition chimique très riche et variée. En effet, 187 molécules thermostables ont été mises en évidence dans le profil chromatographique dont 37 ont été identifiées. Ces dernières appartiennent principalement à 3 familles chimiques qui sont : les hydrocarbures, les Alcools et les lipides. La famille des hydrocarbures (aliphatiques et aromatiques) semble la plus importante avec 34.87% du courant ionique total (TIC) représentée avec 32 molécules. Dans cette famille les hydrocarbures aliphatiques sont les plus dominants (26.36 % du TIC). Les deux autres familles chimiques à savoir les lipides et les alcools sont faiblement représentées avec respectivement 2.91% (3 molécules) et 0.75% (2 molécules). Le profil chromatographique révèle aussi la présence d'une molécule avec une abondance très élevée à un temps de rétention (TR) égale à 55.95 min. L'examen du spectre de masse de cette molécule (figure 38C) décèle un Anthraquinone appartenant à la famille chimique des hydrocarbures aromatiques polycycliques. Il s'agit bien du 1,8-dihydroxy-6-méthoxy-, appelée aussi, « la pariétine », molécule caractéristique de cette espèce, d'où elle tire son nom : *Xanthoria parietina*.

1.3.2. Screening phytochimique de l'extrait acétonique

L'examen du profil chromatographique de l'extrait acétonique a permis aussi de mettre en évidence 128 molécules dont 42 identifiées, soit 59.66 % du TIC. Ces dernières appartiennent à 7 familles chimiques qui sont : les hydrocarbures, les Esters, les Phénols, les cétones, les amines, les Ethers et les alcools. Parmi ces dernières, la famille des hydrocarbures est également la plus représentée avec 20.4% du TIC et 29 molécules ; suivie par les Esters avec 19.26 % (3 molécules dont le 2-Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl- qui représente à lui seul 18.48% du TIC). Quant aux Amines sont présents avec 2 molécules, soit 3.6% du TIC. Les 4 autres familles sont faiblement représentées et leur abondance ne dépasse pas les 3.81% répartie sur 6 molécules. Le profil chromatographique révèle aussi la présence du pigment cortical photoprotecteur, précédemment détecté chez *Xanthoria parietina*, à savoir la pariétine, et ce, au même temps de rétention (TR égale à 55.95 min). L'abondance de cette molécule est de 11.51% du TIC.

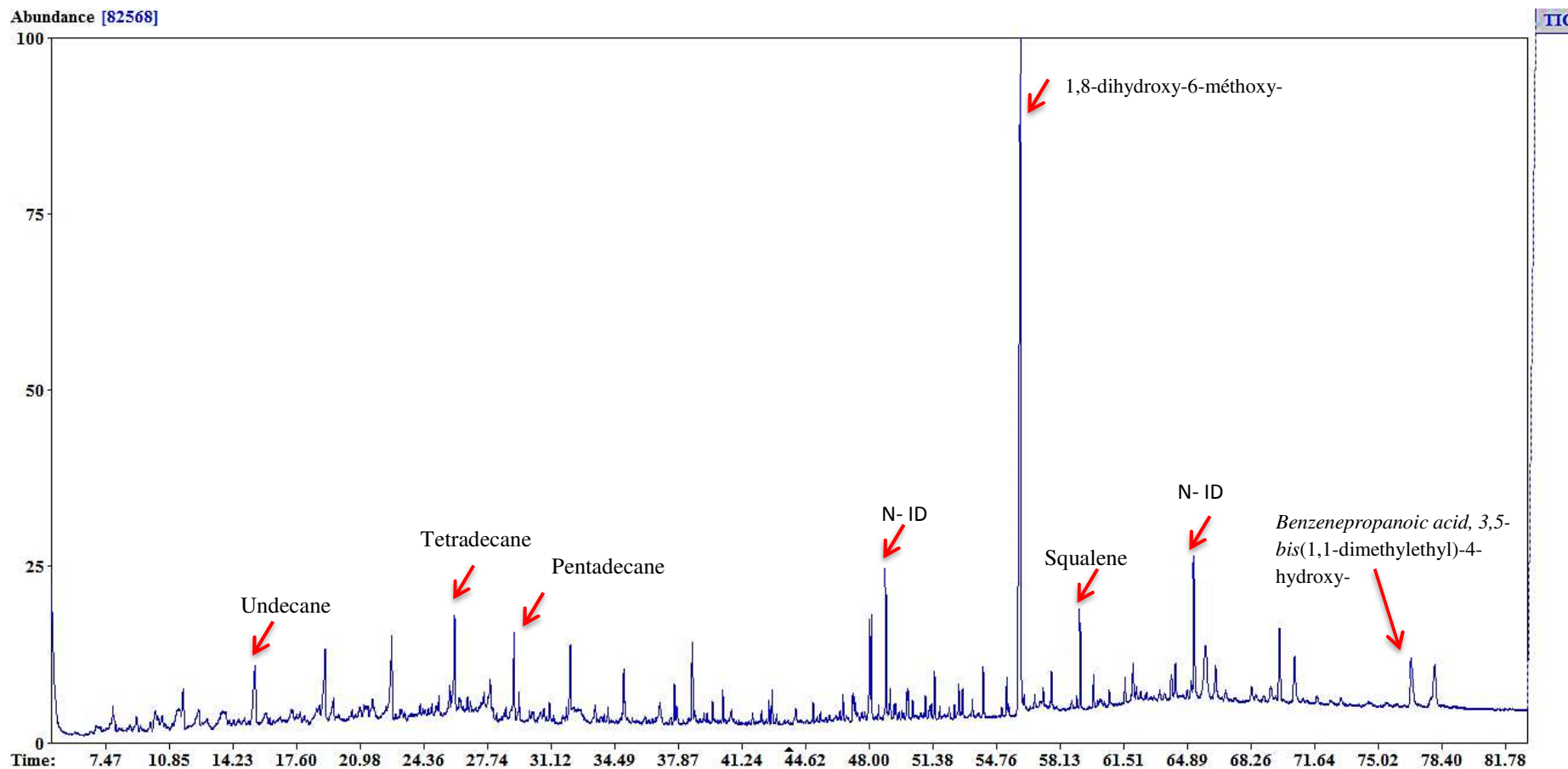


Figure 36. Profil Chromatographique des métabolites secondaires obtenus par extraction éthanolique
(N- ID : molécule non identifiée)

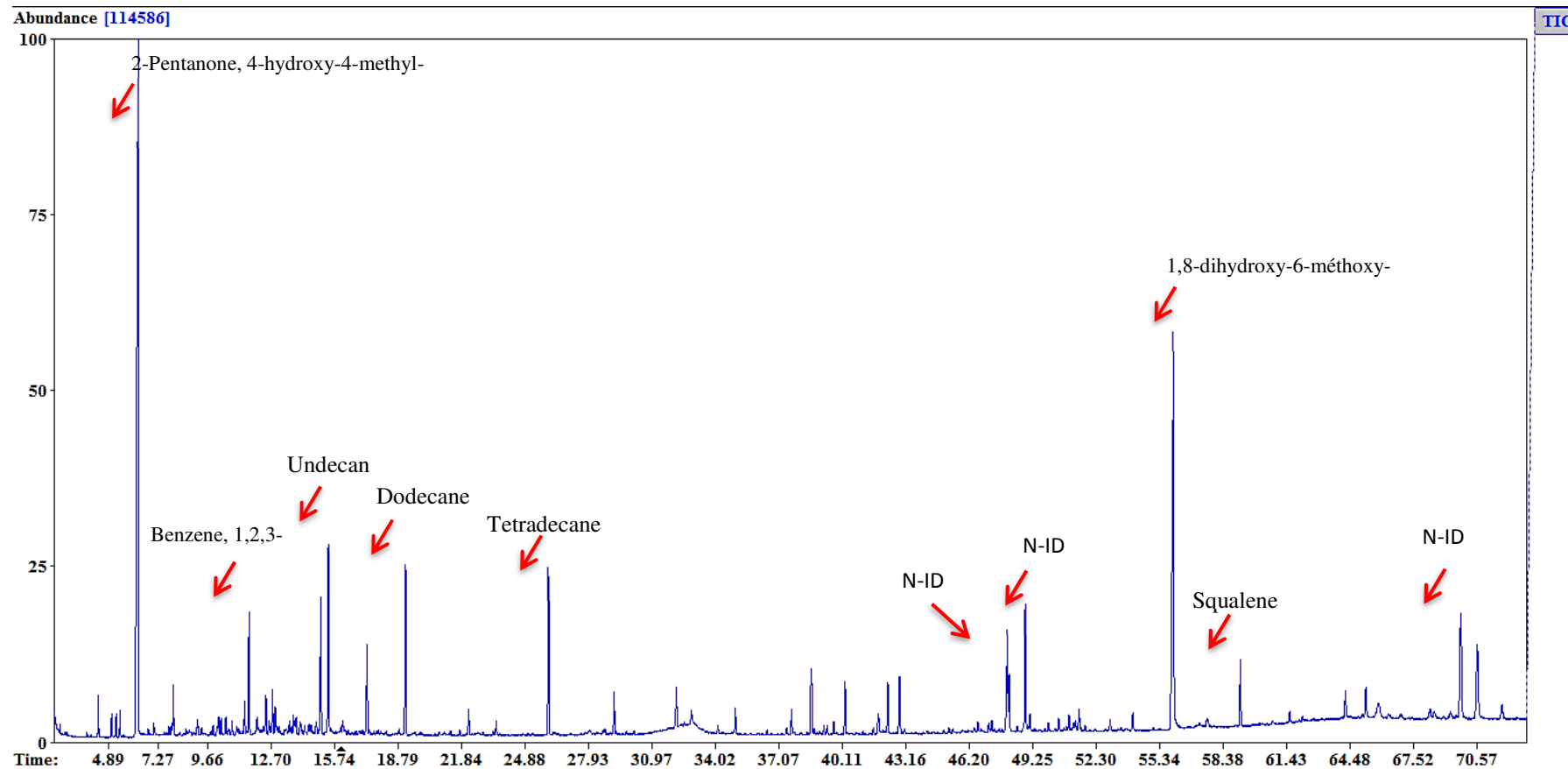


Figure 37. Profil Chromatographique des métabolites secondaires obtenus par extraction des extraits acétonique
(N- ID : molécule non identifiée)

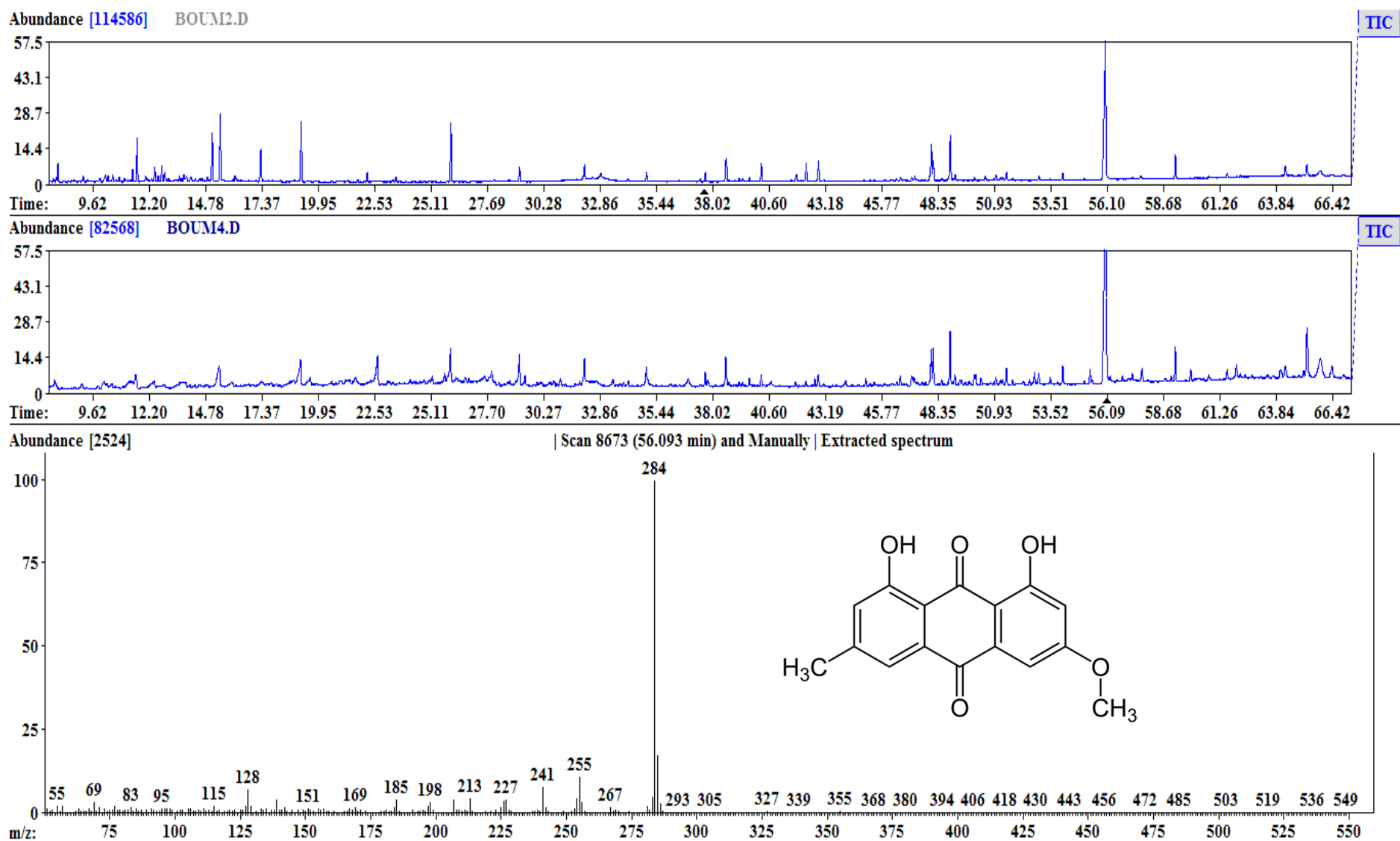


Figure 38. Comparaison des profils chromatographiques des deux extraits éthanolique (A) et acétonique (B). C) spectre de masse de la pariétine

Tableau 5 : Molécules identifiées chez *Xanthoria parietina* par GC/MS obtenues extraction éthanolique.

Pic n°	Temps de rotation	Abondance (%)	Molécules
1	7	0.37	p-Xylene
2	7.55	0.15	2,2'-(1,4-Piperazinediyl)bis[N-...
3	7.87	0.80	Benzene, 1,3-dimethyl-
4	10.49	0.37	Benzene, 1,2,4-trimethyl-
5	11.04	0.14	Cyclohexane, 1-methyl-2-propyl-
6	11.39	1.07	Benzene, 1,2,3-trimethyl-
7	11.60	0.77	Decane
8	12.42	0.95	Decane, 4-methyl-
9	14.53	0.21	Benzene, 1-methyl-2-(1-methylet...
10	14.86	0.21	Benzene, 1-methyl-2-(1-methylet...
11	15.41	1.58	Undecane
12	15.98	0.47	Benzene, 1,2,3,4-tetramethyl-
13	16.19	0.06	Benzene, 1,2,4,5-tetra methyl-
14	17.85	0.45	Benzene, 2-ethyl-1,4-dimethyl-
15	19.13	1.75	Dodecane
16	21.66	0.91	Dodecane, 2,6,11-trimethyl-
17	22.66	0.46	Tridecane
18	23.14	0.40	Naphthalene, 2-methyl-
19	26.01	2.17	Tetradecane
20	26.76	0.72	Naphthalene, 2,3-dimethyl-
21	26.69	0.65	Naphthalene, 1,8-dimethyl-
22	26.86	0.39	Naphthalene, 2,7-dimethyl-
23	28.73	0.58	Eicosane
24	29.17	1.47	Pentadecane
25	29.43	0.60	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethyleth...
26	29.98	0.29	Naphthalene, 2,3,6-trimethyl-
27	30.18	0.36	Naphthalene, 2,3,6-trimethyl-
28	30.75	0.31	Naphthalene, 2,3,6-trimethyl-
29	32.15	1.16	Hexadecane
30	34.99	1.07	Heptadecane
31	37.69	0.36	Eicosane
32	40.25	0.31	Nonadecane
33	45.05	0.19	Heneicosane
34	54.07	0.51	Bis(2-ethylhexyl) phthalate
35	56.05	12.49	1,8-dihydroxy-6-méthoxy-
36	59.23	1.02	Squalene
37	78.04	1.38	<i>Benzenepropanoic acid, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxy-</i>

Tableau 6 : Molécules identifiées chez *Xanthoria parietina* par GC/MS obtenues extraction acétonique.

Pic n°	Temps de rotation	Abondance (%)	Molécule
1	4,42	0,46	Toluene
2	5,06	0,27	3-Penten-2-one, 4-methyl-
3	5,28	0,31	Tetrachloroethylene
4	5,46	0,28	Acetic acid, butyl ester
5	6,32	18,48	2-Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl-
6	7,10	0,2	p-Xylene
7	7,82	0,13	Benzene, 1,3-dimethyl-
8	8,02	0,77	Nonane
9	9,19	0,36	Octane, 3,6-dimethyl-
10	9,93	0,26	Benzene, propyl-
11	10,2	0,52	Benzene, 1-ethyl-3-methyl-
12	10,32	0,28	Benzene, 1-ethyl-3-methyl-
13	10,54	0,33	Benzene, 1,3,5-trimethyl-
14	10,84	0,23	Benzene, 1-ethyl-2-methyl-
15	11,07	0,35	Cyclohexane, 1,1-dimethyl-
16	11,44	0,61	Benzene, 1,2,3 -trimethyl-
17	11,65	1,71	Decane
18	12,47	0,70	Benzene, 1,3,5-trimethyl-
19	12,63	0,33	Benzene, 1-methyl-2-(1-methylet...
20	12,79	0,67	D-Limonene
21	12,92	0,91	Eucalyptol
22	13,59	0,27	Benzene, 1-methyl-3-propyl-
23	13,80	0,60	1,2,3,4,5,8-Hexahydronaphthalene
24	13,91	0,36	Decane, 4-methyl-
25	14,32	0,22	Decane, 3-methyl-
26	14,53	0,27	Benzene, 4-ethyl-1,2-dimethyl-
27	14,63	0,29	Benzene, 1-ethyl-2,4-dimethyl-
28	14,88	0,32	Benzene, 1,2,3,4-tetramethyl-
29	15,10	2,33	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,3...
30	15,46	3,39	Undecane
31	16,15	0,9	4-Piperidinone, 2,2,6,6-tetrame...
32	17,32	1,72	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-trimethyl-, (1S)-
33	19,17	2,79	Dodecane
34	22,20	0,5	Acetic acid, 1,7,7-trimethyl-bi...
35	26,03	2,67	Tetradecane
36	29,18	0,73	Pentadecane
37	32,16	2,67	Hexadecane
38	32,89	2,7	[1,1'-Biphenyl]-3-amine
39	35	0,46	Heptadecane
40	37,69	0,51	Octadecane
41	56,05	11,51	1,8-dihydroxy-6-méthoxy-
42	59,23	1,08	Squalene

2. Discussion

Les lichens résultent d'une association, stable et indépendante, entre un mycosymbiote et un photosymbiote, dans laquelle le mycosymbiote est le partenaire englobant l'autre dans une structure originale appelée : thalle lichénique (Raven, 2003). Cette structure varie selon les espèces et constitue l'une des principales clés de détermination de ces organismes. L'étude que nous avons menée commence tout d'abord par l'établissement d'un petit inventaire lichénique à partir d'un échantillon d'espèces prélevées au niveau de la zone intégrale du parc national de Djurdjura. Les tests aux moyens de produits chimiques conjugués à des prises de vue ainsi qu'à des clés de détermination axées principalement sur les caractères morphologiques comme la couleur et la forme des thalles ainsi que le type des organes de reproduction, ont conduit à leur identification. En effet, l'analyse méticuleuse des 56 échantillons récoltés dans une petite partie de la zone intégrale du parc national de Djurdjura, nous a permis de révéler la présence de 22 espèces de lichens différentes (dont 19 ont été identifiées), soit environ 42.3% de la richesse lichéniques du parc déclarée. Ces résultats suggèrent, de ce fait, que la richesse du PND en espèces lichéniques est beaucoup plus élevée que le chiffre avancé dans la bibliographie, évoquant 52 espèces. Ce chiffre demande bien évidemment à ce qu'il soit scientifiquement vérifié ; d'autant plus qu'il n'y a aucune étude d'inventaire fiable réalisée, à même de circonscrire la richesse floristique du P.N.D.

Dans la deuxième partie de ce travail, et afin de contourner les problèmes de résistance aux antibiotiques, devenus si fréquents, nous avons évalué, l'activité des métabolites de quelques-unes des espèces lichéniques échantillonnées, contre un groupe de microorganismes pathogènes dans le but de trouver de nouvelles substances auxquels ces germes sont sensibles. La science moderne, a déjà révélé que les lichens sont des organismes produisent une large variété de métabolites naturels spécifiques, dont le nombre ne cesse de croître. En effet, entre 1996 et 2001, Huneck avait déjà compté environ 800 molécules différentes (Huneck, 2001 ;Huneck et Yoshimura, 1996). Actuellement, le nombre de métabolites lichéniques identifiés avoisinerait les 1050 (Stocker-Wörgötter, 2008). Cette liste est loin d'être exhaustive, beaucoup d'autres molécules restent à identifier. Les études récentes montrent aussi que certains de ces métabolites, possèdent une action antimicrobienne avérée alors que d'autres ont des propriétés antitumorales et inhibitrices de la réplication du virus du Sida (Thi Huyen Vu 2014).

Les activités biologiques observées pour les divers métabolites secondaires extraits des lichens choisis par différents solvants, montrent qu'ils peuvent en effet, limiter la croissance cellulaire de certaines bactéries. Les résultats obtenus révèlent aussi quelques limites de l'efficacité des méthodes d'analyse utilisées. En effet, la méthode de diffusion standard pratiquée dans ce travail pour l'étude de l'activité antimicrobienne des différents extraits lichéniques a révélé des zones d'inhibitions relativement faibles, suggérant ainsi un problème dans la diffusion des métabolites dans la gélose Mueller-Hinton. Les différents travaux de microbiologie ont déjà montré que certains métabolites comme les antifongiques, diffusent

très mal dans la gélose à cause de leur haut poids moléculaire, révélant de ce fait, des petits diamètres d'inhibition (Pihet et Marot, 2013). Pour contourner ce problème nous avons pensé à mettre les métabolites, préalablement extraits et dépourvus de solvants, directement en contact avec les germes dans un milieu de culture liquide. Les résultats obtenus se sont révélés extrêmement intéressants. En effet, malgré la très faible concentration en métabolites utilisée dans les extraits testés, l'efficacité antibactérienne enregistrée était très significative ; affichant, dans certains cas, une réduction de la croissance bactérienne d'environ 50%. En sus, certains extraits qui n'avaient pas présenté des zones d'inhibitions dans la première méthode, ont montré, avec cette méthode, une activité antimicrobienne avérée confirmant le problème de diffusion suspecté. D'autre part, les résultats obtenus par cette méthode nous ont révélé des effets totalement inattendus des métabolites lichéniques. Une stimulation remarquable de la croissance bactérienne a été mise en évidence suite à l'addition de certains extraits. Ces résultats, évoquent une utilisation probable de certains métabolites comme source d'énergie ou comme stimulateurs de la croissance cellulaire par les bactéries.

Pour avoir une idée sur les molécules biologiquement actives présentes dans tous les extraits un screening phytochimique par GC/MS était programmé. Cependant, faute de moyen d'analyse, nous n'avons pu obtenir que les profils des extraits éthanolique et acétonique de l'espèce *Xanthoria parietina*. L'examen des deux profils montre une composition en métabolites secondaires quasi identique (figure 38A et B), caractérisée par la présence de la pariétine (le 1,8-dihydroxy-6-méthoxy-) en abondance. Cette dernière, est un pigment cortical photoprotecteur (Solhaug *et al.*, 2003), de couleur jaune/orange appartenant à la famille des anthraquinones. C'est le pigment principal des lichens du genre *Xanthoria* et *Caloplaca* qui s'y dépose en cristaux extracellulaires dans leur cortex supérieur (Choi *et al.*, 2004). Cette molécule, semble avoir aussi des propriétés biologiques intéressantes. En effet, la pariétine isolée à partir de *Ramalina celastri* a montré une activité antivirale contre le virus de Junin (responsable de la fièvre hémorragique argentine) et de Tacaribe (Arenavirus, TCRV) (Fazio *et al.*, 2007). L'examen des résultats obtenus par l'extrait acétonique et éthanolique de l'espèce *Xanthoria parietina*, a montré une activité biologique presque identique sur toutes les souches étudiées à l'exception des *Staphylococcus* sensibles qui ont subi un effet bactériostatique par l'extrait acétonique. Ces résultats corroborent d'une part, ceux obtenus par GC/MS montrant des profils presque identiques ; et montre d'autre part que la pariétine semble inhiber la croissance de certaines bactéries comme *Proteus*, *E-coli* et *Staphylococcus* en forme résistante et stimule, d'autre part, la multiplication des deux bactéries gram négatif en l'occurrence, *Klebsiella* et *Serratia*. Cette propriété nécessite une étude plus approfondie pour comprendre d'avantage les mécanismes impliqués.



Conclusion et perspectives

Conclusion et Perspectives

Les différentes observations et mesures que nous avons réalisées au cours de cette étude, nous ont permis d'avoir des résultats extrêmement intéressants sur les lichens du parc national de Djurdjura.

Dans la première partie, nous avons abordé la diversité lichénique du PND, qui malgré la surface assez réduite de la zone intégrale balayée lors de l'échantillonnage, nous avons pu mettre en évidence la présence de 22 espèces de lichens différentes, dont 19 ont été identifiées, soit environ 42.3% de la richesse lichéniques du parc, mentionnée dans la bibliographie. Ces résultats montrent, de ce fait, que la richesse de cette réserve naturelle en espèces lichéniques est beaucoup plus élevée que le chiffre avancé, soit 52 espèces. Ce chiffre demande impérativement à ce qu'il soit scientifiquement vérifié, par la réalisation d'un inventaire fiable, à même de circonscrire la richesse floristique du P.N.D.

Dans la deuxième partie de cette étude, nous avons focalisé nos efforts sur l'étude des métabolites bioactives extraits, des lichens échantillonnés, par différents solvants organiques. L'étude des activités biologiques des divers extraits lichéniques, montre que ces derniers peuvent, d'une part, limiter la croissance cellulaire de certaines bactéries et, d'autre part, stimuler la multiplication bactérienne des autres souches pathogènes de référence.

Les résultats obtenus nous ont révélé aussi quelques limites dans l'efficacité des méthodes d'analyse utilisées, particulièrement la méthode de diffusion standard qui nous a montré des zones d'inhibitions relativement faibles, suggérant ainsi un problème dans la diffusion des métabolites dans la gélose Mueller-Hinton.

Les analyses par GC-MS, utilisées pour évaluer la composition des extraits, révèlent que la complexité des extraits de l'espèce *Xanthoria parietina* est peut-être sous-estimée par la littérature. En effet, Les profils chromatographiques nous ont permis d'identifier plusieurs composés obtenus par extraction dans les solvants organiques. La majorité des molécules identifiées sont de nature aromatique. Les autres composés n'ont pu être identifiés en raison d'une trop faible volatilité. C'est probablement ce qui explique pourquoi certains métabolites connus chez l'espèce étudiée n'ont pu être détectés, à l'exception de la pariétine retrouvé en abondance chez *Xanthoria parietina*.

Les travaux que nous avons réalisés dans le cadre de ce mémoire et les résultats qui en ont découlé, ouvrent de nombreuses perspectives de travail. Divers aspects pourraient en effet être approfondis et/ou abordés.

En effet, ces travaux préliminaires montrent qu'il sera intéressant de poursuivre les études sur l'isolation et l'identification des métabolites naturels d'extraits de lichens afin de mieux comprendre leur rôle dans le milieu naturel ainsi que leur potentiel bioactif.

Nous pensons qu'il est extrêmement intéressant aussi de figurer les recherches sur la diversité lichénique du PND par la réalisation d'un inventaire exhaustif de toutes les espèces présentes dans cette réserve naturelle.



Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- ✿ Agnes FLour, (2004). Observation biologique des lichens. Ed. Moissac. France, 172 p
- ✿ Ait Hammou M., (2015). Analyses taxonomique et écologique des lichens de la région de TIARET. Thèse de Doctorat. Université d'Oran 1. Algérie. 266 p
- ✿ Ait Hammou M., Miara M, Rebbas K., Slimani A, Ravera S. Hamer El-Ain A., (2014). Mise à jour de l'inventaire des lichens d'Algérie. *Revue Ecologie-Environnement* (10) : 75-103.
- ✿ Asahina Y, Shibata S, (1971). Chemistry of lichen substances. Japan Society for the Promotion of Science, Tokyo, Ed. Asher & Co. Ltd. (Vaals), p 165.
- ✿ Asta J, Letrouit M. A, (1994). Thallus morphogenesis in some lichens. *Cryptogamic Botany*, 4 : 274-282.
- ✿ Boullard B. (1990). Guerre et paix dans le règne végétal. Ellipses Marketing Ed. Masson, 334p.
- ✿ Choi, G.J. Lee, S.W. Jang, K.S. Kim, J.S, (2004), Effects of chrysophanol, parietin, and nepodin of *Rumex crispus* on barley and cucumberpowderymildews, *Crop Protection*, 23(12), 1215-1221
- ✿ Culberson C.F., Elix J. A., (1989). Lichen substances. In *Methods in Plant Biochemistry*. Volume 1, *Plant Phenolics*, Harborne, Ed. 1989, pp 509-536.
- ✿ Culberson, C. F., (1969). Chemical and botanical guide to lichen products. University of North Carolina Press, 628 p.
- ✿ Culberson, W. L. (1970). Chemosystematics and ecology of lichen-forming fungi. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 1: 153–170.
- ✿ Des abbayes H, Chadfaud M. (1978). Précis de botaniques tome 1. Végétaux inférieurs. 2ème édition, Ed Masson, Paris 500 p
- ✿ Elix J. A. et Crook C. E., 1992. The joint occurrence of chloroxanthones in lichens, and a further thirteen new lichen xanthones. *Bryologist*, 95(1) : 52–64.
- ✿ Elix , J. A. (1996). Biochemistry and secondary metabolites. *Lichen Biology*. T. H. Nash. Cambridge, , Cambridge University Press: 154-180.
- ✿ Elix JA, Crook CE. (1992). The joint occurrence of chloroxanthones in lichens, and a further thirteen new lichen xanthones. *Bryologist.*;95:52–64.
- ✿ Fazio AT, Adler MT, Bertoni MD, Sepúlveda CS, Damonte EB, et al. (2007) Lichen secondary metabolites from the cultured lichen mycobionts of *Teloschistes chrysophthalmus* and *Ramalina celastri* and their antiviral activities. *Z Naturforsch C* 62: 543–549.
- ✿ George B. (1999). Understanding Lichens. Ed. Richmond. 92 p.
- ✿ Goujon M. (2004). Lichens et biosurveillance de la qualité de l'air. Publication de l'Agence régionale de l'environnement de Haute-Normandie : connaitre pour agir. 4 p.
- ✿ Hale M. E., (1969). How to know the lichens, 2e Édition, Wm. C. Brown Company Publishers, Dubuque, 246 p.
- ✿ Huneck S, Yoshimura I, (1996). Identification of Lichen Substances. Heidelberg: Springer Verlag, Berlin 493 p.
- ✿ Huneck S, (2001). New Results on the Chemistry of Lichen Substances. In: Progress in the chemistry of organic natural products, Herz W, Falk H, Kirby AW, Moore RE, 81 editors, Springer-Verlag Wien GmbH. New York, pp224-230.
- ✿ Johnson P.N.; D.J. Galloway 1999. Lichens on trees: identification guide to common lichens and plants on urban and rural trees in New Zealand. Landcare Research Contract Report LC9899/071, Landcare Research, Dunedin, New Zealand. 33 p.
- ✿ Le Gac E, Miralles B M, Brosseau L, De champeaux E. (2006). Les lichens : Structure, écologie et intérêt, Mem. lic. Univ de Rennes 1 UFR SVE, 135 p.
- ✿ Linnaeus C., (1753). *Species Plantarum* , ed. Impensis Laurentii Salvii, 132p.
- ✿ Masson J-C. 2014. Les lichens, bioindicateurs de la qualité de l'air- IFE - avril 2014

- ☀ Merabti K., (2008). Utilisation des lichens comme indicateurs biologiques de la pollution atmosphérique dans la région est d'Alger. Mémoire de. Magister. Université Badji Mokhtar Annaba, 93 p.
- ☀ Mallil K. 2012. Comparaison des caractéristiques du régime alimentaire et de l'occupation de l'espace de la Genette (*Genetta genetta* L.1758) dans deux milieux du Nord algérien : Parcs Nationaux du Djurdjura et d'El-kala. Mémoire de Magister. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 172p.
- ☀ Mosbah B., (2007). Etude comparative de la dynamique de la flore lichénique corticole sur *Quercus ilex* L, et *Pistacia atlantica* Desf au niveau du Djebel Sidi R'ghis- Oum El Bouaghi- Mémoire d'ingénieur, Centre Universitaire Larbi Ben M'hidi Oum El-Bouaghi (Algérie), 115 p.
- ☀ Ozenda P, Clauzade G. (1970). Les Lichens, étude biologique et flore illustrée. Ed. Masson et Cie. Paris-VIe, France. 800 p.
- ☀ Ozenda P. (2000). Les végétaux. Organisation et diversité biologique. Éd. Dunod, Paris. 512 p.
- ☀ Pihet M., Marot A., (2013). Diagnostic biologique des candidoses. Revue francophone des laboratoires. 43 (450) : 47-66.
- ☀ Poelt, J. (1969). Bestimmungsschlüssel europäischer Flechten. Cramer, Lehre, (clés de la plupart des lichens européens). 757 p.
- ☀ Rahali M., (2002). Cartographie de la pollution plombique dans la région d'Alger en utilisant un lichen (*Xanthoria parietina*) comme bioaccumulateur. Pollution atmosphérique. vol. 44, N° 175 : 421-432.
- ☀ Rahali M., (2003). Etude de la pollution plombique et globale dans la région d'Alger, en utilisant les lichens comme indicateur biologiques. Thèse doctorat. Institut National d'Agronomie (Alger), 302 p
- ☀ Raven P. H., Evert R. F., Eichhorn S. E., Bouharmont J. (2003). Biologie végétale, De Boeck Université, 968 p
- ☀ Rousteau, A. 2006. La végétation lichénique de la réserve naturelle de Camargue. *Bulletin de l'Association française de lichénologie*, vol 30-1 : pp.10-26
- ☀ Serusiaux E., Diederich P, Lambinon J. (2004). Les macrolichens de Belgique, du Luxembourg et du Nord de la France : Clés de détermination. Luxembourg : Travaux scientifiques de Musée national d'histoire naturelle de Luxembourg. 192 p.
- ☀ Solhaug K.A., Gauslaa Y., Nybakken L., Bilger W., (2003). UV-induction of sun - screening pigments in lichens, *New Phytol*, 158: 91–100.
- ☀ Soussy C.J., Bonnet R., Caron F., Cavallo J.D., Chardon H., Chidiac C., Courvalin P., Drugeon H., Dubreuil L., Jarlier V., Jehl F., Lambert T., Leclercq R., Nicolas-Chanoine M.H., Plesiat P., Ploy M.C., Quentin C., Soussy C.J., Varon E., Weber P. (2012). Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie : Recommandations 2012. Edition de Janvier 2012. 59p. <http://www.sfm-microbiologie.org>
- ☀ Stocker-Wörgötter E (2008) Metabolic diversity of lichen-forming ascomycetous fungi: culturing, polyketide and shikimate metabolite production, and PKS genes. *Nat Prod Rep* 25: 188–200.
- ☀ Stocker-Wörgötter, E., Mach Cortes Cordeiro, L., Lacomini, M. (2013). Studies in Natural Products Chemistry, 39, 337-380.
- ☀ Thi Huyen Vu. (2014). Etude des acides gras du genre *Stereocaulon* et l'étude phytochimique du lichen *S. evolutum* Graewe. Chimie thérapeutique. Université Rennes 1, Français. 325p.
- ☀ Tievant P., (2001) : Guide des lichens : 350 espèces de lichens d'Europe. Édition Délachaux et Niestlé, Paris, 304 p
- ☀ Trevor, G. (1994). The lichens of British Columbia (part 1). British Columbia Ministry of Forest Research Program. 144 P.