

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun –Tiaret–

Faculté Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Toxicologie et Sécurité Alimentaire

Présenté par :

- Abdi Sarah
- Assoul Lina Khalida
- Aribi Miram

Thème

**Etude de l'activité antioxydante et
antibactérienne de l'extrait méthanolique de
quelques lichens de la région de Tiaret**

Soutenu publiquement, le : 23 Juin 2025

Jury :

Président : Mme. BOUDALI. S

Encadrant : Dr. CHAFAA. M

Co-encadrant : Melle. ARABI Rania

Examineur : Dr. MOKHFI. F.Z

Grade

MAA

MCA

Doctorante

MCA

Année universitaire 2024-2025

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciement

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements en premier lieu à Dieu pour nous avoir accordé la capacité d'écrire et de réfléchir, ainsi que la patience nécessaire pour atteindre nos objectifs. Nous saluons également notre prophète Mohamed, paix et bénédictions sur lui, qui a été le premier éducateur de l'humanité

*Nous souhaitons également exprimer notre gratitude envers notre encadrante **Dr. Chafaa Meriem** et notre Co-encadrante **Mlle Arabi Rania** pour leurs patiences, ses conseils précieux et ses recommandations.*

*Nous sommes reconnaissants envers les membres du jury : **Mme. Boudali Souad**, et **Dr. Mokhfi Fatima Zohra** pour leur acceptation de juger et évaluer ce travail.*

Nous adressons nos remerciements les plus sincères à tous les enseignants de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie qui ont contribué à notre formation académique et professionnelle.

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude aux ingénieurs de laboratoire **Mr. Benhalima Ahmed**, **Mme Sammar Fatima**, **Mme Hellal Fatima**, **Mme Safaa Zahra** et surtout **Mme Amel Benmessaoud**, pour leurs disponibilités et leurs professionnalismes, **que Dieu vous récompense.***

Dédicace

Avant toute chose, je rends grâce à **Allah**, Le Tout-Puissant, pour Sa guidance, Sa force et Sa miséricorde tout au long de ce parcours.

Une pensée reconnaissante à **moi-même**, pour chaque effort et chaque pas vers ce but.

À **mes chers parents**, merci pour votre amour, vos sacrifices et vos prières constantes. Vous êtes ma source de courage.

À **mes sœurs et frères**, merci pour votre soutien, votre affection et votre présence rassurante.

À **mes amis, camarades**, et toutes **les belles âmes** croisées sur mon chemin merci pour les rires, les encouragements et l'énergie positive. Chacun de vous a une place spéciale dans mon cœur.

À celles avec qui j'ai formé **un trinôme précieux** Miram et Sarah merci pour les souvenirs, les efforts partagés et cette belle complicité durant cette aventure de fin d'études.

Enfin, je voudrais dire merci à tous ceux qui ont touché ma vie d'une manière ou d'une autre.

Que Dieu vous bénisse tous.



Lina khalida

Dédicace

A l'aide d'Allah tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

A ma chère mère

Ma Lumière dans les ténèbres, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie, qui a porté mes fatigues, et prié pour moi sans relâche. Ce diplôme est d'abord le tien, car tu es le secret de chacun de mes pas.

A mon cher père

Toi qui m'as appris que les rêves deviennent réalité par l'effort et la volonté. Ton soutien silencieux et ta fierté dans mon regard ont toujours été ma plus grande motivation.

A ma chère tante Malika,

Ma seconde mère, qui m'a entouré d'amour, de tendresse et une bienveillance qui a laissé une empreinte indélébile dans mon âme. Ta présence a toujours été un réconfort précieux.

A mon cher frère Mounir.

A mes chères tantes Khadidja, Fatiha et ma chère grand-mère,

A ma confidente Hayet

Ton amitié est un cadeau rare, faire de loyauté, de sincérité et d'un amour pur

À celles avec qui j'ai formé un trinôme précieux Miram et Lina merci pour les souvenirs, les efforts partagés et cette belle complicité durant cette aventure de fin d'études.



Sarah

Dédicace

Je dédie ce travail :

À moi-même, pour ma persévérance et ma patience malgré les doutes.

À ma mère, ma lumière constante, mon repère, mon paradis sur terre, celle dont la seule présence suffit à tout apaiser.

À mon père, pour son amour inconditionnel et ses encouragements.

À mon trinôme de cœur, Sarah et Lina : ce travail à vos côtés a été un pur bonheur, riche en rires, en complicité et en belles leçons.

À mon frère Abdelweheb, mon bras droit, ma force tranquille.

À mes sœurs, Ichrek et Bouchra, pour leur présence apaisante.

À mes chères amies, Bouchra, Zahira, Ikram, Aya, Houda et Imen, pour leur affection, leur énergie et leur écoute sincère.

À Ayoub et Youcef, mes frères de cœur, pour leur amitié indéfectible.

À mes tantes, ainsi qu'à mes cousines et cousins, pour leur amour.



Miram

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des abréviations	
Listes des figures	
Liste des Tableaux	
Liste des annexes	
Résumé	
Introduction	1

Partie 01 : Synthèse bibliographique

Chapitre 01: Généralités sur les lichens

1. Généralités sur les lichens	5
1.1. Définition des lichens.....	5
1.2. Ecologie et répartition des lichens	5
1.3. Constitution des lichens	6
1.3.1. Partenaire fongique (Mycobionte).....	6
1.3.2. Partenaire chlorophyllien (Photobionte).....	6
1.4. Morphologie et anatomie des thalles lichéniques.....	6
1.4.1. Morphologie des thalles.....	6
1.4.2. Anatomie des thalles.....	8
1.5. Structures lichéniques	9
1.5.1. Structures lichéniques de la face supérieure.....	9
1.6. Reproduction des lichens	9
1.6.1. Reproduction asexuée ou reproduction végétative	9
1.6.2. Reproduction sexuée.....	10
1.7. Intérêt de l'utilisation des lichens	10
1.7.1. Usage en bio-indication	10
1.7.2. Usages industriels	10
1.7.3. Usage médicinale et pharmacologique	11
1.7.4. Usages alimentaires	11

Chapitre 02: Métabolites lichéniques

2. Métabolites lichéniques.....	13
2.1. Métabolisme	13
2.1.1. Métabolites primaires	13

2.1.1.1. Classes de métabolites primaires	13
2.1.2. Métabolites secondaires.....	14
2.2. Propriétés biologiques et applications des métabolites secondaires lichéniques	14
2.2.1. Métabolites secondaires lichéniques	14
2.2.2. Principales classes de métabolites secondaires des lichens.....	15
2.2.3. Classification des composés du métabolisme secondaire.....	16
2.2.3.1. Composés phénoliques.....	16
2.2.3.2. Terpénoïdes (Terpènes).....	17
2.2.3.3. Substances azotées	18
2.2.4. Rôle des substances lichéniques	19
2.3. Activité biologique	19
2.3.1. Activité antioxydante.....	19
2.3.1.1. Radicaux libres.....	19
2.3.1.2. Stress oxydatif.....	20
2.3.1.3. Antioxydants	20
2.3.2. Activité antibactérienne	20
2.3.2.1. Généralités sur les bactéries utilisées dans cette étude	21
2.3.3. Activité antifongique	22
2.4. Généralités sur les espèces étudiées	22
2.4.1. <i>Evernia prunastri</i>	22
2.4.1.1. Classification taxonomique.....	22
2.4.1.2. Description botanique	23
2.4.1.3. Composition chimique	23
2.4.2. <i>Squamarina cartilaginea</i>	24
2.4.2.1. Classification taxonomique.....	25
2.4.2.2. Description botanique	25

Partie 02 : Partie expérimentale

Chapitre 03: Matériel et méthodes

3. Matériel et méthodes	28
3.1. Objectifs du travail	28
3.2. Lieu et durée du travail.....	28
3.3. Présentation du site d'étude.....	28
3.4. Matériel	29
3.4.1. Matériel végétal	29

3.4.2. Matériel du laboratoire	31
3.5. Méthodes adoptées	32
3.5.1. Séchage et broyage	32
3.5.2. Extraction par macération.....	32
3.5.3. Calcul du rendement d'extraction.....	33
3.6. Étude phytochimique.....	34
3.6.1. Screening phytochimique	34
3.6.1.1. Test pour les Saponines	34
3.6.1.2. Test pour les sucres réducteurs (Test de Fehling).....	34
3.6.1.3. Test pour les tanins	34
3.6.1.4. Test pour les stérols et les triterpènes	35
3.6.1.5. Alcaloïdes (Test de Dragendorff)	35
3.6.1.6. Test pour les Coumarines.....	35
3.6.1.7. Test polyphénols (Réaction avec le chlorure de fer).....	35
3.6.1.8. Anthocyanines (Réaction de détection)	35
3.6.1.9. Test pour glycosides cardiaques (Réaction de détection)	35
3.6.1.10. Quinones libres (Test de détection)	35
3.6.1.11. Huiles essentielles (Test organoleptique)	36
3.6.2. Détermination quantitative	36
3.6.2.1. Dosage des polyphénols totaux.....	36
3.6.2.2. Dosage des tanins condensés	36
3.6.3. Activité antioxydante.....	36
3.6.4. Activité antibactérienne	37
3.6.4.1. Souches bactériennes testées.....	37
3.6.4.2. Méthode d'antibiogramme.....	38
3.6.4.3. Méthode de diffusion sur milieu solide (Méthode des disques)	38
3.6.4.4. Méthode de micro-dilution en milieu liquide La CMI (Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice)	39
3.6.4.5. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB).....	40

Chapitre 04: Résultats et discussion

4. Résultats et discussion.....	44
4.1. Rendement d'extraction	44
4.2. Résultats des analyses phytochimiques	45
4.2.1. Détermination qualitative	45
4.2.2. Détermination quantitative	48

4.2.2.1. Détermination de la teneur des phénols totaux	48
4.2.2.2. Détermination de la Teneur des Tanins condensés	49
4.3. Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante	51
4.3.1. Evaluation du pouvoir antioxydant (Test de DPPH)	51
4.4. Résultats de l'activité antibactérienne	53
4.4.1. Mesure des diamètres des zones d'inhibition	53
4.4.2. Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrice (CMI) et Bactéricide (CMB)	55
Conclusion.....	60
Références Bibliographiques.....	63
Annexes	

Liste des abréviations

- ✚ % I : Pourcentage d'inhibition
- ✚ [µg (EC) / mg MS] : Microgramme équivalents de catéchine par milligramme
- ✚ [µg (EAG) /mg MS] : Microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme
- ✚ MS : Matière sèche.
- ✚ ± : Plus ou moins
- ✚ µ.g : Microgramme
- ✚ µ.l : Microlitre
- ✚ AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium
- ✚ ATCC : American Type Culture Collection
- ✚ BN : Bouillon nutritif
- ✚ °C : Degré Celsius
- ✚ CMB : Concentration Minimale Bactéricide
- ✚ CMI : Concentration Minimale Inhibitrice
- ✚ DPPH : 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl
- ✚ *E. Coli* : *Escherichia coli*
- ✚ *E.P* : *Evernia Prunastri*
- ✚ Eq : Equivalent
- ✚ ERO : Espèces réactives de l'oxygène
- ✚ FeCl₃ : Trichlorure ferrique
- ✚ H : Heure
- ✚ HO₂• : Radical perhydroxyle
- ✚ H₂SO₄ : Acide sulfurique
- ✚ H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène
- ✚ O²⁻• : Radical superoxyde
- ✚ HCl : Acide chlorhydrique
- ✚ IC₅₀ : Concentration Inhibitrice à 50%
- ✚ Mg EAG /g extrait : Milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait
- ✚ MH : Muller Hinton
- ✚ Mm : Millimètre
- ✚ Mn : Minute
- ✚ OH : Hydroxyle
- ✚ R% : Rendement d'extraction
- ✚ RO₂• : Radical peroxyde
- ✚ *S. aureus* : *Staphylococcus aureus*
- ✚ *S.C* : *Squamarina cartilaginea*
- ✚ UV : Ultraviolet

Liste des figures

Figure 01: Principaux types de thalles lichéniques (Pierre, 2016).....	7
Figure 02: Différents structure du thalle (Pierre, 2016).....	8
Figure 03: <i>Evernia prunastri</i> (Photo originale, 2025)	24
Figure 04 : <i>Squamarina cartilaginea</i> (Photo originale, 2025).....	25
Figure 05: Situation géographique de la zone d'étude.....	29
Figure 06: <i>Squamarina cartilaginea</i> (Photo originale, 2025).....	30
Figure 07: <i>Evernia Prunastri</i> (Photo originale, 2025)	30
Figure 08: Broyage de <i>Squamarina cartilaginea</i>	32
Figure 09: Broyage d' <i>Evernia prunastri</i>	32
Figure 10: Extraction par macération des deux lichens	33
Figure 11: Extrait obtenu après évaporation	33
Figure 12: Ensemencement de la suspension bactérienne dans un milieu gélosé.....	39
Figure 13: Microdilution en milieu liquide (CMI).....	40
Figure 14: Différentes étapes de la CMI et la CMB	41
Figure 15: Organigramme des différentes étapes de l'étude.....	42
Figure 16: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux .	48
Figure 17: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés (Ait abderrahim, 2024)	50
Figure 18: Pourcentage d'inhibition de l'activité antiradicalaire de <i>S. cartilaginea</i> exprimé en IC50	51
Figure 19: Pourcentage d'inhibition de l'activité antiradicalaire de <i>E. Prunastri</i> exprimé en IC50.....	52
Figure 20: Zones d'inhibition d' <i>Evernia prunastri</i> contre <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Escherichia coli</i>	54
Figure 21: Zones d'inhibition de <i>Squamarina cartilaginea</i> contre <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Escherichia coli</i>	54
Figure 22: Concentration Minimale inhibitrice (CMI) d' <i>Evernia prunastri</i> et <i>Squamarina cartilaginea</i>	56
Figure 23: Concentration minimale bactéricide de <i>Evernia prunastri</i> contre <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Escherichia coli</i>	56
Figure 24: Concentration Minimale bactéricide de <i>Squamarina cartilaginea</i> contre <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Escherichia coli</i>	57

Liste des tableaux

Tableau 01: Les différents appareillages, produits chimiques et verreries utilisés.....	31
Tableau 02: Souches microbiennes utilisées.....	38
Tableau 03: Rendement des extraits méthanolique des deux lichens utilisés.....	44
Tableau 04: Paramètres phytochimiques des deux lichens.....	45
Tableau 05: Principaux métabolites secondaires détectés et leurs activités biologiques rapportées dans la littérature	47
Tableau 06: Teneurs en phénols totaux, des extrais méthanolique de <i>E. prunastri</i> , <i>S. cartilaginea</i>	48
Tableau 07: Teneurs des tanins condensés des extrais méthanolique de <i>E. prunastri</i> , <i>S. cartilaginea</i>	50
Tableau 08: Diamètre des zones d'inhibition des extraits méthanoliques de <i>S. squamarina</i> et <i>E. prunastri</i> contre <i>S. aureus</i> et <i>E. coli</i>	53
Tableau 09: Concentration minimales inhibitrices et bactéricides des extraits méthanoliques de <i>S. cartilaginea</i> et <i>E. prunastri</i> contre <i>S. aureus</i> et <i>E. coli</i>	55

Listes des annexes

Annexe 01: Autres échantillons collectés.....	80
Annexe 02: Tests pour les sucres réducteurs des deux espèces <i>Evernia prunastri</i> et <i>Squamarina cartilaginea</i>	80
Annexe 03: Tests des quinones libres pour les deux espèces <i>Evernia prunastri</i> et <i>Squamarina cartilaginea</i>	81
Annexe 04: Tests des alcaloïdes pour les deux espèces <i>Evernia prunastri</i> et <i>Squamarina cartilaginea</i>	81
Annexe 05: Tests des polyphénols totaux pour les deux espèces <i>Evernia prunastri</i> et <i>Squamarina cartilaginea</i>	82

Résumé

Le but de cette étude est d'évaluer les activités biologiques, notamment les propriétés antioxydante et antibactérienne, des extraits méthanoliques de deux espèces de lichens récoltées dans la région de Tiaret : *Evernia prunastri* et *Squamarina cartilaginea*.

Ces organismes symbiotiques, riches en métabolites secondaires, suscitent un intérêt croissant en tant que sources potentielles de composés bioactifs naturels.

L'activité antioxydante a été évaluée à l'aide du test de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle). L'activité antibactérienne des extraits méthanoliques a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu solide ainsi que par la méthode de microdilution en milieu liquide, en déterminant la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) et la CMB (Concentration Minimale Bactéricide), contre deux souches bactériennes : *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

Les résultats obtenus indiquent que les extraits méthanoliques de *Squamarina cartilaginea* présentent une activité antioxydante plus marquée que ceux d'*Evernia prunastri*.

En ce qui concerne l'activité antibactérienne, les deux extraits ont montré une efficacité notable, en particulier contre *Staphylococcus aureus*. De manière générale, les extraits des deux espèces ont révélé des propriétés antioxydantes et antibactériennes significatives, probablement liées à la présence de composés phénoliques et de tanins.

Mots-clés : Lichens, Activité antioxydante, Activité antibactérienne, Extraits méthanoliques, *Squamarina cartilaginea*, *Evernia prunastri*, Tiaret.

Abstract

The aim of this study is to evaluate the biological activities, particularly the antioxidant and antibacterial properties, of methanolic extracts from two lichen species collected from the Tiaret region: *Evernia prunastri* and *Squamarina cartilaginea*. These symbiotic organisms are rich in secondary metabolites, are attracting increasing interest as potential sources of natural bioactive compounds.

Antioxidant activity was assessed using the free radical scavenging test DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) assay. Antibacterial activity was evaluated using both the agar diffusion method and the broth microdilution method, with determination of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC), against two bacterial strains: *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

The results show that the methanolic extracts of *Squamarina cartilaginea* exhibit stronger antioxidant activity than those of *Evernia prunastri*. Regarding antibacterial activity, both extracts demonstrated notable efficacy, particularly against *Staphylococcus aureus*.

Overall, the extracts of both species revealed significant antioxidant and antibacterial properties, likely associated with the presence of phenolic compounds, and tannins.

Key words: Lichens, antioxidant activity, antibacterial activity, methanolic extracts, *Squamarina cartilaginea*, *Evernia prunastri*, Tiaret.

الملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم الأنشطة البيولوجية، وبشكل خاص الخصائص المضادة للأوكسدة والمضادة للبكتيريا، للمستخلصات الميثانولية لنوعين من الأشنات تم جمعهما من منطقة تيارت: *Evernia prunastri* و *Squamarina cartilaginea*. تُعرف هذه الكائنات المتعايشة بغناها بالمركبات الثانوية، مما يجعلها محل اهتمام متزايد كمصادر محتملة لمركبات نشطة طبيعياً.

تم تقييم النشاط المضاد للأوكسدة باستخدام اختبار قدرة محاصرة الجذر الحر (DPPH 2,2-ثنائي فينيل-1-بيكريل هيدرازيل). كما تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا باستخدام كل من طريقة الانتشار في الوسط الصلب وطريقة التخفيف المتسلسل في الوسط السائل، مع تحديد التركيز المثبط الأدنى (CMI) والتركيز القاتل الأدنى (CMB)، ضد سلالتين بكتيريتين: *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus*.

أظهرت النتائج المتحصل عليها أن مستخلص *Squamarina cartilaginea* يتميز بنشاط مضاد للأوكسدة أقوى من *Evernia prunastri*. أما بالنسبة للنشاط المضاد للبكتيريا، فقد أظهرت المستخلصات فعالية ملحوظة، خصوصاً ضد المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*. عموماً، كشفت مستخلصات النوعين من الأشنات عن خصائص مضادة للأوكسدة والبكتيريا مهمة يُحتمل أن تكون مرتبطة بوجود مركبات فينولية وتانينات.

الكلمات المفتاحية: الأشنات، النشاط المضاد للأوكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا، المستخلصات الميثانولية، *Squamarina cartilaginea*, *Evernia prunastri*، تيارت

Introduction

Introduction

Selon **Boullard (1997)**, les lichens ne sont connus avec certitude que depuis le tertiaire, mais il est possible de reconnaître qu'ils remontent à des temps aussi anciens. Ils ne forment pas un embranchement. Les plantes sont des organismes primitifs qui sont issus de la coexistence d'un partenaire fongique et d'un organisme photosynthétique, qu'il s'agisse d'une algue ou d'une cyanobactérie. Les lichens sont plus de 20 000 espèces connues qui vivent dans différents écosystèmes. Ils se trouvent sur tous les substrats, les écorces, les tiges, les feuilles et dans le sol, mais habitent souvent des environnements moins propices aux plantes supérieures (**Kosanié et al., 2014**).

Les lichens génèrent une multitude de métabolites secondaires spécifiques, également connus sous le nom « d'acides lichéniques », qui sont uniques en leur genre dans la nature. Ces substances sont généralement de nature phénolique, y compris les anthraquinones, les depsides, les dépsidones et l'acide usnique (**Diniz et al., 2015**).

L'homme a employé les lichens à diverses fins, notamment comme source de nourriture pour lui-même en temps de famine ou pour ses animaux, et source de teinture ou de fragrances. Ils jouent également un rôle crucial et essentiel dans le fonctionnement d'un écosystème, au point qu'ils constituent de précieux indicateurs pour la caractérisation écologique d'un environnement naturel (**Collombet, 1989**). Ils sont aussi qualifiés comme plantes médicinales, car ils présentent des propriétés qui ont été exploitées pour divers usages thérapeutiques à savoir antimicrobienne, anti-inflammatoire, antiparasitaire, antivirale, antitumorale, etc. (**Cocchietto et al., 2002**).

C'est pour cette raison qu'il est nécessaire d'apporter une attention particulière au choix des lichens ainsi qu'au procédé et au type de solvants utilisés pour l'extraction de ces composés actifs et déterminer l'extrait phénolique à efficacité optimale. C'est dans ce cadre que s'inscrit l'objectif de ce présent travail. Il s'intéresse à la détermination du pouvoir antioxydant et antibactérien des extraits polyphénoliques issus de deux lichens, de la région de Tiaret, *Evernia Prunastri* et *Squamarina Cartilaginea*, afin de cribler l'extrait ayant l'activité antioxydante et antibactérienne la plus importante et ce dans l'optique de l'exploiter dans plusieurs stratégies de lutte et de prévention.

Pour établir ce travail, nous avons subdivisé notre étude en deux parties : une partie bibliographique englobant deux chapitres ; un décrivant les lichens et l'autre détaillant les métabolites secondaires ; et une partie expérimentale qui inclut deux chapitres dont le premier présente l'origine du matériel expérimental : l'indication des différentes méthodes adoptées et

Introduction

la mise en place du protocole expérimental sont identifiées dans ce chapitre. La présentation et la discussion des résultats de l'étude sont évoquées dans le deuxième chapitre.

Enfin, nous concluons sur la qualité exceptionnelle de l'extrait de ces lichens et leurs effets antioxydant et antibactérien et nous présenterons les perspectives qu'ouvre ce travail pour des éventuelles extensions de cette pratique.

Partie 01 :

Synthèse

bibliographique

Chapitre 01 :

Généralités sur les

lichens

1. Généralités sur les lichens

Il est probable que les lichens soient les premiers à coloniser les milieux terrestres sur notre planète, comme le témoignent les archives fossiles qui datent de 400 à 600 millions d'années. Ces fossiles affirment que les champignons ont établi des collaborations symbiotiques avec des organismes photo-autotrophes. On dénombre approximativement 300 genres et 18 000 espèces de lichens connus. Ils génèrent plus de 800 métabolites secondaires **(Stojanovic et al., 2011)**.

1.1. Définition des lichens

Le mot Lichen vient du grec (ce qui explique sa prononciation courante : liken') et apparaît pour la première fois dans les textes de Théophraste (IV^e siècle avant notre ère), où il décrit des végétaux poussant sur les troncs d'arbres, à qui l'on prêtait alors des propriétés bénéfiques **(Ozenda et Clauzade, 1970)**.

L'ensemble présente une morphologie et une structure distinctives, qui facilitent la définition de genres et des espèces. Le lichen est le résultat de la combinaison de génomes distincts **(Genevès, 1990)**.

Les lichens résultent de la symbiose entre deux organismes : le mycobionte, qui est un champignon hétérotrophe, et le photobionte, qui est un organisme photoautotrophe pouvant être soit une algue (phycobionte), soit une cyanobactérie (cyanobionte), ou les deux simultanément **(Catesson et Robert, 2000)**. Ils n'ont ni tiges, ni feuilles, ni racines, ni vaisseaux transportant de sève, par conséquent ils ne possèdent pas de vascularisation. Ils font partie du groupe végétal des thallophytes, incluant aussi les champignons. Les lichens sont des organismes thallophytes dont l'appareil végétatif, composé d'hyphes et de filaments ou de cellules chlorophylliennes, constitue un thalle **(Goujon, 2004)**. La morphologie du thalle est attribuée aux hyphes.

1.2. Ecologie et répartition des lichens

La croissance des lichens se fait à un rythme très lent, généralement de 0.1 à 10 mm par an, et exceptionnellement, quelques centimètres. Elle se déplace plus lentement en hiver qu'en été, mais est plus rapide sur des substrats riches. Les lichens de grande taille ont généralement plusieurs siècles d'âge, tandis que les lichens foliacés peuvent avoir plusieurs dizaines d'années **(Goujon, 2004)**.

Les lichens sont des organismes pionniers qui s'installent dans tous les types d'environnements terrestres. On les retrouve dans tous les types de climat et à toutes les latitudes, bien qu'ils soient plus fréquents au nord qu'au sud. Divers facteurs influencent la distribution des lichens : l'eau, la lumière, la température et Le substrat **(Goujon, 2004)**.

Selon **Vust et al., (2015)**, les lichens pourraient être parmi les premiers organismes à avoir colonisé la terre ferme. On peut facilement les détecter dans les lieux à proximité de l'homme : murs, toits, piquets, fils électriques. Dans la nature, on les retrouve souvent en train de coloniser les troncs et les branches des arbres, les pierres et les sols de diverses sortes d'habitats (landes, prairies ouvertes, terrains sablonneux ou rocheux...) (**Bellenfant et al., 2010**).

Les lichens se développent dans une grande variété de biotopes. On ne les trouve qu'à des profondeurs supérieures à 10 mètres dans la mer, au cœur des villes où la pollution de l'air est forte, et sur les tissus animaux vivants (**Clauzade et Roux, 1987**). On distingue selon le type de substrats (**Vust et al., 2015**) :

- Les lichens colonisant les troncs et les branches des arbres vivants sont dits corticoles ;
- Les espèces croissant sur les rochers forment le groupe des lichens saxicoles ;
- Les quelques espèces poussant au sol sont dites terricoles ; les lichens croissant sur les mousses sont dits muscicoles et sont ici intégrés dans les terricoles au sens large ;
- Les espèces croissant sur le bois mort sont appelées lignicoles.

1.3. Constitution des lichens

Les lichens sont habituellement composés de deux partenaires qui maintiennent des liens étroits.

1.3.1. Partenaire fongique (Mycobionte)

C'est lui qui intègre l'algue, qui façonne le lichen, qui garantit la reproduction sexuée (spores), qui préserve l'algue de la déshydratation et qui fournit les minéraux. Dans l'association, le champignon en question est toujours un septomycète et dans 98% des situations, le mycobionte appartient à la classe des ascomycètes (qu'il s'agisse de pyrénomycètes ou de discomycètes), ce qui nous amène à parler d'un ascolichen. Il arrive aussi parfois que ce soit un basidiomycète (basidiolichen) (**Ait Hammou, 2015**).

1.3.2. Partenaire chlorophyllien (Photobionte)

Le partenaire algal, également connu sous le nom de photobionte, possède la capacité de réaliser la photosynthèse. Par conséquent, il utilise l'énergie solaire pour produire des sucres à partir de l'eau et du CO₂. Le partenaire de la photosynthèse est généralement une algue verte (les Chlorophycées) (**Sérusiaux et al., 2004**).

1.4. Morphologie et anatomie des thalles lichéniques

1.4.1. Morphologie des thalles

Thalle crustacé : Le thalle crustacé, qui se présente sous forme de croûtes formées par le lichen sur son substrat, est de très loin le plus courant (**Fig. 1. A**) (**Sérusiaux et al., 2004**).

Thalle foliacée : Ils ont des lobes qui peuvent être aisément détachés du substrat sur lequel ils sont attachés. Dans certains cas, les thalles foliacés ne s'attachent au substrat que par un petit crampon, généralement situé au milieu de la face inférieure (**Fig.1. B**). Ils affichent toujours un cortex supérieur et un cortex moins compétent en analyse microscopique (**Asplund et Wardle, 2016**).

Thalle fruticuleux : Sous la forme d'une tige ou d'une lanière plus ou moins ramifiée, attachée au support par une zone réduite (**Fig.1. D**) (**Clauzade, 1991**).

Thalle squamuleux : Le thalle squamuleux se compose de petites écailles ou squames (**Fig.1. C**), et seule une petite partie du thalle se fixe au substrat (**Ait Hammou, 2015**).

Thalle lépreux : A l'œil nu, ces thalles semblent être de la poudre qui se détache aisément du substrat (**Fig.1. F**) (**Parrot, 2014**).

Thalle gélatineux : De couleur sombre, généralement noire, avec une texture coriace, rigide et cassant à l'état sec, pulpeux et gélatineux à l'état humide (**Fig.1. E**) (**Clauzade, 1991**).

Thalle composite : Thalle constitué de deux sections bien définies (**Tievant, 2001**) :

- Thalle primaire ayant une adhérence variable au substrat, crustacé, squamuleux, plus ou moins foliacé.
- Thalle secondaire Fruticuleux et qui se développe de manière secondaire sur le thalle primaire (**Fig.1. G**).

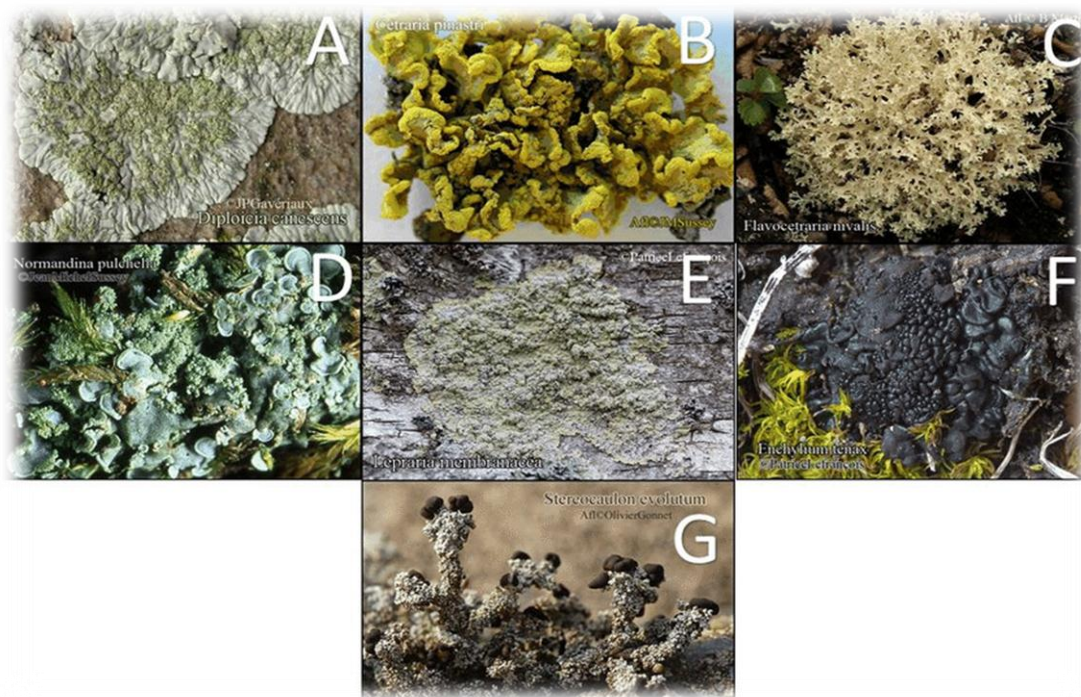


Figure 01: Principaux types de thalles lichéniques (**Pierre, 2016**)

1.4.2. Anatomie des thalles

D'après **Flagey (1896)**, le thalle constitue l'organe de la végétation dans les lichens, affichant des variations illimitées en termes de taille et de couleur. D'un point de vue anatomique, le thalle présente deux modifications clairement identifiables (**Figure 02**) :

- **Structures homéomères** : Champignons et algues, ou encore cyanobactéries, sont homogènement entremêlés (**Parrot, 2014**).
- **Structures hétéromères** : Elle se distingue par la présence de plusieurs couches superposées, stratifiées et rayonnées (**Bebba et Ben Derouiche, 2007**).

a. Structure hétéromère stratifiée : Cette organisation est courante chez la majorité des thalles foliacés. Elle peut également se présenter dans de rares lichens fruticuleux, ainsi que certains thalles squamuleux ou crustacés (**Clauzade et Roux, 1987**). La coupe transversale renferme un cortex supérieur, une couche algale et une médulle, un cortex inférieur, capable de générer des rhizines (**Clauzade et Roux, 1987**).

b. Structure hétéromère radiées : Pour la majorité des lichens fruticuleux, les couches sont comparables à celles de structure stratifiée, à l'exception que le cortex inférieur est absent ou substitué par un cordon axial (**Engler et Lacoux, 2009**).

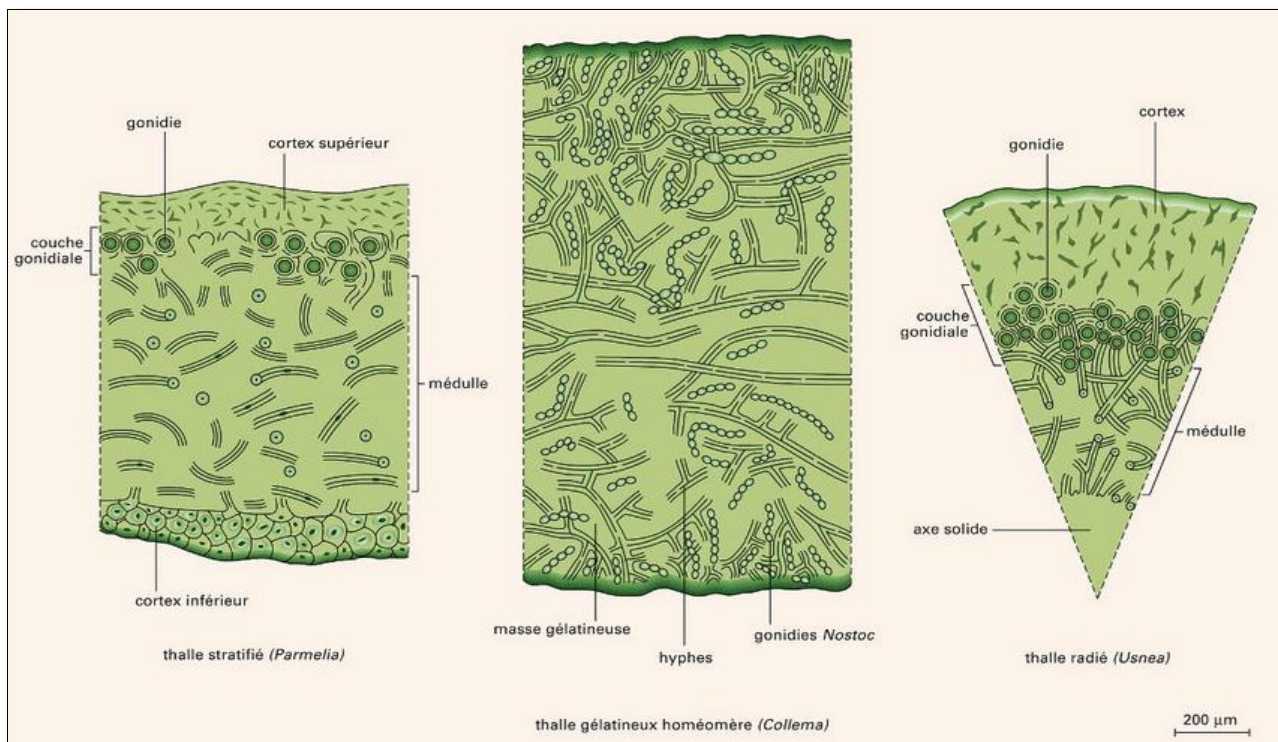


Figure 02: Différents structure du thalle (**Pierre, 2016**)

1.5. Structures lichéniques

1.5.1. Structures lichéniques de la face supérieure

Les poils : Il s'agit d'étendues fines et allongées, à peine perceptibles à l'œil nu, composées d'un hyphe libre. Ils sont dispersés de manière éparpillée ou extrêmement dense, créant un duvet connu sous le nom tomentum (**Ait Hammou, 2015**).

Les Cils : Ils sont plus épais que les poils, perceptibles à l'œil nu et plus sombres que le thalle. Ils sont dispersés sur le thalle ou placés sur la périphérie (**Agnes flour, 2004**).

1.5.2. Structures lichéniques de la face inférieure

Cyphelles et pseudocyphelles : Les cyphelles sont de petites indentations du cortex inférieur qui révèlent la médulle, elles se trouvent exclusivement dans le genre *Sticta*. Si la médullaire est exposée (avec moins de cortex à ce niveau), on parle de pseudocyphelles (**Agnes flour, 2004**).

Rhizines : Il s'agit de structures de fixation, unidimensionnelles ou ramifiées, caractéristiques de la plupart des thalles foliacés (**Ozenda et Clauzade, 1970**).

1.6. Reproduction des lichens

Les lichens se reproduisent selon deux voies : sexuée et asexuée (végétative).

1.6.1. Reproduction asexuée ou reproduction végétative

Le lichen peut se reproduire de deux manières : soit par fragmentation du thalle, due notamment à des facteurs mécaniques (comme le vent ou le piétinement par des animaux) (**Sérusiaux et al., 2004**), soit grâce à des organes spécialisés appelés sorédies ou isidies (**Boullard, 1988 ; Durrieu, 1993 ; Ozenda, 2000**) :

- **Soralies :** Se manifestent sous forme de zones pulvérulentes qui trouent le cortex supérieur. La taille de ces taches varie considérablement d'une espèce à l'autre : allant de petites marques ponctuelles à couvrir entièrement la surface du thalle (*Lecanora expallens*). Elles doivent leur apparence à pulvérulent lors de la production de sorédies.
- **Sorédies :** Mode de reproduction végétative observé chez un grand nombre de lichens. À la surface du thalle, sur une soralie, un petit glomérule, qui n'est pas cortiqué mais de type mixte, apparaît.
- **Isidies :** Il s'agit de protubérances coniques du thalle qui se brisent aisément et sont capables de régénérer un thalle.

1.6.2. Reproduction sexuée

Les hyphes fongiques contribuent aussi à la reproduction sexuée. On désigne les structures chargées de cette mission sous le nom d'ascocarpes. Selon **Noël (2017)**, deux types ont été identifiés :

- **Apothécies** : Elles se présentent sous la forme d'une coupole dont l'intérieur est tapissé d'un tissu fertile connu sous le nom d'hyménium. Ce matériau est composé d'asques renfermant des spores et de paraphyses non fertiles (**Noël, 2017**).
- **Périthèces** : Ils présentent une forme de dôme dont le sommet est percé par un port ou ostiole. Ces derniers renferment un tissu productif dénommé nucleus, formé par des asques et des paraphyses. Les spores qui sont ainsi libérées ne sont que des cellules fongiques destinées à assurer la continuité de l'espèce (**Noël, 2017**).

1.7. Intérêt de l'utilisation des lichens

Depuis l'Antiquité, les lichens sont reconnus pour leurs multiples applications, notamment dans le domaine médicinal, alimentaire et artisanal. Leur utilisation comme source de nourriture, bien que marginale, a été observée principalement dans des contextes de disette ou durant les périodes de guerre. De plus, certaines espèces lichéniques présentent un intérêt particulier en tant que sources potentielles de composés antibiotiques ou comme bioindicateurs de la qualité de l'environnement (**Ozenda, 2000**).

1.7.1. Usage en bio-indication

Les bioindicateurs sont des organismes qui signalent clairement quand leur environnement change (**Ait Hammou, 2015**). Les bioindicateurs, tels que les invertébrés et les lichens, sont couramment utilisés pour évaluer la qualité des eaux des rivières ainsi que celle de l'air (**Van Haluwyn et Lerond, 1993**).

Les lichens sont sensibles à la pollution atmosphérique, même quand elle est faible. Ils ont besoin d'un environnement de bonne qualité pour vivre, comme toutes les espèces vivantes (**Merabti et al., 2018**). Les lichens constituent de bons indicateurs biologiques des gaz et d'autres polluants atmosphériques, ce qui justifie leur utilisation dans la bioindication lichénique (**Déruelle, 1978**).

1.7.2. Usages industriels

Les lichens sont utilisés dans l'industrie de la parfumerie. Ils sont extraits d'arbres, plus précisément de deux espèces : *Evernia prunastri* (la mousse du chêne) et *Pseudevernia furfuracea* (mousse des arbres) (**Ait Hammou, 2015**). **George (1999)** souligne que 8000 et 9000 tonnes de lichens ont été récoltés chaque année pour les parfums. Ils sont aussi utilisés

pour la fabrication des parfums et des savons avec les huiles essentielles de certains lichens **(Boustie, 2013)**.

Les lichens sont colorés par des substances appelées « substances lichéniques », et ont des multiples applications en teinturerie **(Bellenfant et al., 2010)**. Dans les pays nordiques, ils exploitent les lichens de manière artisanale **(Ait Hammou, 2015)**.

1.7.3. Usage médicinale et pharmacologique

Dans le monde entier, les médecines traditionnelles utilisent des lichens comme l'*Usnea* pour soigner les infections bactériennes. Les lichens, comme d'autres mycètes, doivent se protéger des bactéries **(Boucher et Millbank, 2010)**. Les lichens sont intéressants en médecine parce qu'on peut en tirer des antibiotiques **(Ait Hammou, 2015)**.

Les lichens produisent des substances chimiques qui peuvent servir à la pharmacologie **(Karthikai Devi et al., 2011 ; Alpsoy et al., 2013)**. Cependant, le lichen présente des propriétés qui ont été exploitées pour divers usages thérapeutiques qui sont antimicrobienne, antiinflammatoire, antiparasitaire, antivirale, antitumorale, etc. **(Cocchietto et al., 2002)**.

En 1989, des chercheurs ont trouvé des propriétés médicinales pour lutter contre le SIDA, cela a prouvé l'intérêt des molécules issues des plantes, Aujourd'hui, des substances lichéniques sont toujours utilisées en homéopathie pour faire des sirops et des pastilles **(Le Gac et al., 2006)**.

1.7.4. Usages alimentaires

En ce qui concerne l'alimentation humaine, c'est uniquement la *Cetraria islandica*, ou « Mousse d'Islande », qui a été utilisée dans les pays nordiques. Elle était mélangée à la farine ou cuite en bouillie, Les lichens peuvent également être utilisés dans l'alimentation des animaux tels que les mammifères alpins, mais ils sont essentiellement utilisés pour nourrir les rennes et les caribous **(Ait Hammou, 2015)**.

Les lichens ont été utilisés comme nourriture pour les êtres humains ou le bétail, mais uniquement dans les régions très pauvres ou en période de disette ou de guerre **(Ozenda, 2000)**.

Au Caire, le lichen *Evernia prunastri* était vendu sous le nom de « Shêba », Il était utilisé comme levure ou agent de fermentation **(Donkin, 1981 ; Wang et al., 2001 ; Karthikai Devi et al., 2011)**.

Chapitre 02 :

Métabolites lichéniques

2. Métabolites lichéniques**2.1. Métabolisme**

Le métabolisme, c'est le mot grec « metabolê », qui veut dire changement. C'est un processus très dynamique. Les molécules se renouvellent tout le temps ; la composition d'une cellule à un moment donné est un équilibre entre synthèse et dégradation. La plupart des synthèses servent à produire des molécules importantes pour la structure et le fonctionnement de la cellule (**Hopkins, 2003**).

Les lichens produisent deux types de métabolites : les métabolites primaires et les métabolites secondaires (**Lawrey, 1986 ; Gayathri et Swamy, 2012**).

2.1.1. Métabolites primaires

Les molécules de métabolisme primaire sont présentes dans toutes les cellules et indispensables à la survie de l'organisme. Ils ne sont pas exclusifs aux lichens et on les retrouve aussi chez les champignons, algues et plantes supérieures. Ils constituent l'essence de la machinerie moléculaire cellulaire, rassemblant les protéines, les lipides, les polyols, les polysaccharides, les pigments (chlorophylles, xanthophylles, carotènes, etc.) ainsi que d'autres composés organiques contribuant au métabolisme et à la structure des lichens (**Olafsdottir et Ingólfssdottir, 2001 ; Hopkins, 2003 ; Podterob, 2008**).

2.1.1.1 Classes de métabolites primaires

Glucides : Sur le plan nutritionnel, les lichens sont abondants en polysaccharides (D-mannose, D-galactose, D-glucose), en cellulose et en hémicellulose. Ces derniers sont intégrés dans l'alimentation des animaux et des humains : ils se transforment en poudre qui est mélangée au blé ou aux pommes de terre pour pallier le manque d'autres farines. Ils sont également utilisés dans la fermentation de la bière (**Dalpé, 2019**).

En particulier, les polysaccharides ont été soumis à des recherches montrant leurs propriétés biologiques, y compris antitumorales, immunostimulantes et antivirales (**Olafsdottir et Ingólfssdottir, 2001**).

Lipides : Dans le lichen, trois acides gras se distinguent par leur abondance, tandis qu'un autre est moins présent. On trouve des acides gras polyinsaturés tels que l'acide linoléique et l'acide linolénique, un acide gras mono insaturé tel que l'acide oléique, ainsi qu'un acide gras saturé comme l'acide palmitique. Les lipides ont également un rôle de stockage nutritif (**Collombet, 1989 ; Coste, 2008**).

Vitamines : Les lichens disposent aussi d'un ensemble d'enzymes et de vitamines : la vitamine C (acide ascorbique) est fréquemment synthétisée en grande quantité. On trouve également d'autres vitamines : des précurseurs de la vitamine A, D et principalement celles du groupe B (biotine, riboflavine, acide folique...) (**Collombet, 1989 ; Coste, 2008**).

Sels minéraux : Leur proportion est habituellement minime : 1 à 2 % du poids sec, mais leur rôle dans les lichens est très similaire à celui observé dans les plantes (**Collombet, 1989**).

2.1.2. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont définis comme des composés non structuraux, dont la localisation se limite à certaines parties des végétaux (**Cannell, 1998**).

Leurs 13 structures, qui sont très variables, dérivent des métabolites primaires, elles ont généralement de faibles poids moléculaires (**Bruneton, 1999**).

Outre leur rôle comme agents protecteurs contre les stress physiques, les métabolites secondaires interviennent dans les mécanismes de défense dirigés contre divers organismes (**Ouzilleau et Payette, 1975**).

Les métabolites secondaires sont communément insolubles dans l'eau. Leur extraction nécessite l'utilisation de solvants organiques. La quantité de métabolites secondaires varie généralement de 0,1 à 10 % du poids sec du thalle, avec des valeurs pouvant atteindre 30 % (**Muggia et al., 2009**).

À ce jour, plus de 700 métabolites secondaires, dont la structure a été déterminée, sont identifiés chez les lichens (**Huneck et Yoshimura, 1996**).

2.2. Propriétés biologiques et applications des métabolites secondaires lichéniques

2.2.1. Métabolites secondaires lichéniques

Les métabolites secondaires, également désignés sous le terme de substances lichéniques, sont des molécules de petite taille mais hautement complexes. À ce jour, plus de 1050 structures de substances lichéniques différentes ont été rapportées (**Molnar et Farkas, 2010**). Parmi les plus connus, figurent l'acide usnique, des composés phénoliques, des triterpènes, des anthraquinones, des dibenzofuranes, des lactones gamma et de l'acide pulvinique (**Sati et Joshi, 2011 ; Gayathri et Swamy, 2012**). Mais ce qui est le plus intrigant, c'est que l'acide usnique, qui est un composé

organique très répandu, est produit par plusieurs espèces de lichens comme *Parmelia*, *Usnea*, *Sticta* (Silar et Malagnac, 2013).

Certains des métabolites secondaires sont générés par le champignon ou l'algue eux-mêmes, tandis que d'autres résultent uniquement de l'interaction synergique des deux partenaires dans les lichens (Mitrović et al., 2011).

Les métabolites secondaires, quant à eux, sont responsables d'une multitude d'effets biologiques, parmi lesquels on peut citer les propriétés antivirales, antibactériennes, antifongiques, antiparasitaires, anti-herbivores, antimutagènes, antioxydantes, antitumorales, antiulcéreuses, analgésiques, antipyrétiques et anti-inflammatoires. Ces effets ont été exploités dans le domaine de la médecine traditionnelle pour le traitement de diverses affections (plaies externes, brûlures, gastrite, rhume, asthme, tuberculose, etc.) chez les êtres humains et les animaux depuis l'époque égyptienne (Mitrović et al., 2011).

2.2.2. Principales classes de métabolites secondaires des lichens

Selon Culberson et Armaleo (1992), les principales classes de métabolites secondaires des lichens sont :

I. Voie des acétogénines

- a. Acides aliphatiques secondaires, esters et composés apparentés
- b. Dérivés aromatiques de l'acide acétique
 1. Composés phénoliques mononucléaires
 2. Dérivés di- et tri-aryl de phénol simple
 - Para-, meta-Depsides, tridepsides et esters de benzyl
 - Depsidones, depsones et diphényl ethers apparentées
 - Dibenzofuranes et dérivés de l'acide usnique
 3. Chromones
 4. Naphthoquinones
 5. Xanthones
 6. Anthraquinones et xanthones biogéniquement reliées

II. Voie de l'acide mévalonique

- a. Di-, sester- et triterpènes
- b. Steroïdes

III. Voie de l'acide shikimique

1. A. Terphénylquinones
2. Dérivées de l'acide pulvinique

2.2.3. Classification des composés du métabolisme secondaire

Selon **Marouf et Reynaud (2007)**, il existe trois grandes classes de composés de métabolites secondaires :

- Composés aromatiques ou polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes, anthocyanidines, tannins), et les quinones.
- Les terpénoïdes et leurs dérivés.
- Les substances azotées.

2.2.3.1. Composés phénoliques

Polyphénols ou composés phénoliques sont des métabolites secondaires qui se retrouvent de manière abondante. On a recensé plus de 8000 structures phénoliques, comme par exemple : flavonoïdes, d'acides phénoliques, de tanins, entre autres (**Dai et Mumper, 2010 ; Waksmundzka-Hajnos et Sherma, 2011**).

Les polyphénols jouent un rôle prépondérant dans les attributs organoleptiques des produits grâce à leurs vertus antiseptiques, antibactériennes et antifongiques. Ils peuvent influencer la préservation des produits alimentaires ou pharmaceutiques dont l'état de la conservation doit être optimal tout au long de leur cycle de vie. Selon **Sarnimanchado et Cheynier (2006)**, les vertus antioxydantes ou anti-inflammatoires des polyphénols contribuent à la lutte contre diverses affections liées au stress oxydatif et au vieillissement cellulaire, y compris les maladies cardiovasculaires.

Acides phénoliques : Les acides phénoliques sont des molécules de petite taille, composées d'un noyau benzénique et d'au moins un groupe hydroxyle. Elles peuvent être soumises à l'estérification et à l'éthérification, (**Wichtl et Anton, 2009**). Au sein de ce large éventail, les acides hydroxy-benzoïques ou hydroxy-cinnamiques occupent une place primordiale grâce à leur prévalence et leur variété dans la majorité des organes végétaux consommés par l'homme (**Jean, 1996**).

Flavonoïdes : Sont des pigments qui donnent les teintes jaune, orange et rouge à divers organes des plantes. Ils ont la capacité de réguler l'activité de certaines enzymes et d'influencer le fonctionnement de divers systèmes cellulaires, indiquant qu'ils pourraient avoir une variété de fonctions biologiques, y compris des propriétés antioxydantes, protectrices pour les vaisseaux sanguins, antihépatotoxiques, antiallergiques, anti-inflammatoires, antiulcéreuses et potentiellement significatives dans la lutte contre les tumeurs (**Ghedira, 2005**).

La capacité antioxydante de ces composés ne se limite pas à la suppression des radicaux libres, elle s'étend également à la neutralisation des enzymes oxydantes et à

la chélation des ions métalliques qui sont à l'origine de la génération des espèces réactives de l'oxygène (**Cotelle, 2001**). Les flavonoïdes sont thermodynamiquement aptes à diminuer les radicaux libres oxydants tels que le superoxyde, le peroxyde et l'hydroxyle grâce au transfert d'hydrogène. Le radical flavonoxy qui en découle à la possibilité d'interagir avec un autre radical pour créer une structure stable (**Jovanovic et al., 1994**).

Anthocyanes : Plus de 635 anthocyanes ont été identifiées, et cette diversité permet d'obtenir une gamme de couleurs allant du rose au rouge, et du violet au bleu sombre. En plus de leurs qualités en tant que teintures, les anthocyanes pourraient avoir des effets bénéfiques pour la santé (comme des vertus anti-inflammatoires, anticancérigènes, une prévention contre les affections cardiovasculaires, un contrôle de l'obésité et une diminution du diabète). Il est probable que toutes ces propriétés soient plus ou moins liées à leur forte capacité antioxydante (**Giusti et Jing, 2007 ; Crozier et al., 2009 ; Basu et al., 2010 ; He et Giusti, 2010**).

Lignines : Sont des composés qui s'accumulent dans les parois cellulaires (sclérenchymes ou noyau de fruits). Elles se trouvent dans la sève brute, fournissant rigidité aux fibres. Les lignines se forment après l'attachement de trois unités phénoliques, appelées monolignols, qui possèdent un caractère hydrophobe (**Sarni et Cheynier, 2006**).

Tanins : Il s'agit de composés polyphénoliques aux structures diverses, qui partagent la caractéristique de rendre la peau tannée, c'est-à-dire résistante à la putréfaction. Il s'agit de molécules. Ils peuvent former des complexes indissolubles lorsqu'ils sont combinés avec des glucides, des protéines et des enzymes digestives, diminuant par conséquent la capacité de digestion des aliments. Ils possèdent de nombreuses applications thérapeutiques (hémostatiques, antidiarrhéiques, antiseptiques). Ils possèdent un système de défense et de sauvegarde des plantes face aux insectes, aux champignons et aux bactéries (**Bruneton, 2009 ; Hassanpour et al., 2011**).

2.2.3.2. Terpénoïdes (Terpènes)

Les terpénoïdes sont des polymères formés d'unités de C5 (**Lüttge et al., 2002**), présents dans toutes les plantes et ils constituent de loin la catégorie la plus étendue des métabolites secondaires (**Raven et al., 2007**). Ils servent de base pour l'industrie des parfumeries et des cosmétiques (**Djibo, 2004**).

Les terpènes constituent les éléments majeurs des inclusions huileuses observées au sein des tissus sécréteurs de la plante (**Morot-Gaudry et Prat, 2012**).

Huiles essentielles : Ce sont des composés volatils et odorants obtenus par distillation à la vapeur d'eau, pressage ou incision de certaines plantes qui les renferment. Elles se forment en tant que sous-produits du métabolisme secondaire dans une vaste gamme de végétaux.

Les huiles essentielles sont des substances liquides d'une grande complexité. Ces dernières possèdent des caractéristiques spécifiques et des modes d'application distinctifs, donnant ainsi lieu à un nouveau segment de la phytothérapie (l'Aromathérapie). D'un point de vue chimique, ces substances sont des mélanges d'une complexité extrême. Les huiles essentielles sont composées de divers constituants tels que les terpènes, les esters, les cétones, les phénols et d'autres éléments (**Benayad, 2013**).

Stérols : Selon **Shukla et al. (2010)**, il a été signalé que les stérols pourraient être essentiels pour la perméabilité des membranes et pourraient potentiellement affecter le déplacement de matières des algues vers les champignons dans les lichens. Habituellement, les champignons sont dominés par les stérols C28, tandis que les algues contiennent principalement des stérols C29 (**Lenton et al., 1973**).

Saponines : Sont des glycosides triterpéniques ou stéroïdiques, caractérisées par leur capacité à former des mousses en solution aqueuse, Elles sont présentes dans de nombreuses plantes et sont associées à des propriétés anti-inflammatoires et hypocholestérolémiantes (**Mueed et al., 2023**).

2.2.3.3. Substances azotées

Les composés azotés se distinguent par leur teneur en azote, qui dans la majorité des situations, intègre leur structure moléculaire sous la forme d'un acide aminé ou de sa variante décarboxylase (**Richter, 1993**).

Alcaloïdes : Le mot alcaloïde, tiré du grec (Eidos = aspect), désigne un composé organique hétérocyclique, généralement d'origine naturelle (principalement végétale), qui contient de l'azote et possède une basicité variable. Certains d'entre eux peuvent être extrêmement toxiques (**Jean, 2009 ; Jaber, 2017**). Les alcaloïdes ont une importance notable en tant que principes actifs dans les médicaments, ils sont employés soit dans leur forme originale, soit sous forme de dérivés plus performants.

Ils possèdent des caractéristiques antimicrobiennes : antibactériennes, antivirales et antifongiques (**Rotimi et al., 1988**). Selon **Iserin (2001)**, les alcaloïdes constituent une vaste et diverse gamme de familles de métabolites secondaires qui

suscitent un intérêt en raison de leurs vertus pharmacologiques et de leur utilisation dans le domaine médical.

2.2.4. Rôle des substances lichéniques

Plus de 50% des composés lichéniques sont produits pour appuyer et préserver l'association symbiotique des différents facteurs abiotiques et biotiques. Malgré la connaissance de plus de 800 substances lichéniques et l'élucidation de leurs structures, il reste encore à caractériser de nombreux autres (**Huneck, 2001 ; Shukla et al., 2010**). Les sous-produits des lichens peuvent constituer jusqu'à 20 % de la masse sèche du thalle, même si une proportion de 5 à 10 % est plus fréquente. Le coût en termes d'énergie et de carbone engagé pour la production de ces composés suggère qu'ils ont un rôle significatif dans le système de défense (**Dayan et Romagini, 2002**). Les acides lichéniques ou métabolites secondaires ont un rôle de défense contre les préjudices causés par les animaux étant donné que certains lichens, tel que *Letharia vulpina*, présente une forte toxicité (**Ozenda et Clauzade, 1970**).

Le principal intérêt porté à ces composés concernait leur potentiel en tant que pharmacophores prospectifs (**Gonzalez-Tejero et al., 1995 ; Huneck, 1999**).

2.3. Activité biologique

Tous les métabolites secondaires issus du lichen possèdent des caractéristiques antibiotiques, antitumorales, antimutagènes, allergisantes, antifongiques et antivirales (**Fazio et al., 2007**). Le potentiel thérapeutique des lichens est depuis longtemps exploité par la médecine douce (**Huneck, 1999**). L'évaluation de l'activité biologique a également révélé des propriétés pesticides, phytotoxiques, antiprolifératives, et antioxydantes (**Dayan et Romagni, 2001**).

2.3.1. Activité antioxydante

L'activité antioxydante est une propriété fondamentale importante pour la vie, elle consiste à l'inhibition des réactions en chaînes de production de radicaux libres et limitant ainsi leurs actions (**Velioglu et al., 1998 ; Popovici et al., 2009**).

2.3.1.1. Radicaux libres

On peut définir un radical libre comme toute espèce capable d'existence autonome contenant un électron non apparié dans une orbitale atomique (**Halliwell et al., 1989 ; Is Young, 2001**). Les mécanismes de cycles redox, qui sont générés dans l'organisme par l'oxydation de molécules telles que les quinones, constituent une source notable de radicaux libres (**Favier, 2003**).

L'ensemble des radicaux libres primaires est généralement désigné sous le terme « espèces réactives de l'oxygène (ERO) » (**Gardes et al., 2003**). Il s'agit de molécules hautement réactives qui sont constamment générées par des réactions enzymatiques au sein des cellules (**Pérez-Pérez et al., 2013**). L'une des espèces réactives oxygénées les plus fascinantes sont les radicaux libres, qui dérivent de la molécule d'oxygène par l'ajout d'un électron : radical superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), radical hydroxyle ($OH^{\bullet}$), monoxyde d'azote ($NO^{\bullet}$), mais également quelques dérivés oxygénés réactifs non radicalaires qui présentent une toxicité significative : l'oxygène singlet (1O_2), peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), peroxydinitrite ($ONOO^{\bullet}$) (**Gardes et al., 2003**).

2.3.1.2. Stress oxydatif

Le terme stress oxydatif est utilisé lorsque l'organisme ne parvient plus à équilibrer la production de radicaux libres et leur neutralisation (**Popovici et al., 2009 ; Djahra, 2014 ; Agbo et al., 2015 ; Ait Abderrahim, 2018**). Il se manifeste par un déséquilibre en faveur des agents oxydants par rapport aux antioxydants, ce qui entraîne une altération de la signalisation et du contrôle redox, ainsi que potentiellement des dommages au niveau moléculaire (**Sies, 2020**).

2.3.1.3. Antioxydants

Aujourd'hui, les antioxydants sont considérés comme des alliés essentiels dans la bataille contre les maladies contemporaines et comme des éléments clés pour assurer la longévité. Ce sont des composants protecteurs présentant une diversité structurale et fonctionnelle remarquable, qui agissent en tant qu'attrapeurs de radicaux libres capables de prévenir ou de ralentir l'oxydation d'autres molécules (**Bita et al., 2022**).

2.3.1.3.1. Rôle des antioxydants

Leur rôle physiologique est de protéger les éléments cellulaires contre les dégâts résultant de réactions chimiques impliquant des radicaux libres (**Is Young, 2001**). Sont alors un moyen de protéger les cellules du corps contre les dommages causés par les radicaux libres qui se sont produits par les mécanismes physiologiques et qui sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable (**Benayad, 2013**).

2.3.2. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne d'une molécule ou composé contenu dans une végétale se rapporte à sa faculté de freiner la prolifération ou d'éliminer une bactérie. Néanmoins la réaction d'une bactérie à un antibactérien dépend du type d'antibactérien

utilisé, la sensibilité d'une bactérie spécifique à un antibactérien peut varier grandement en fonction de la souche à laquelle elle appartient (**Nicolase et Daniel, 1998**).

Plus de 50% des lichens auraient une action antibactérienne, ce qui en ferait une source significative de nouveaux composés bioactifs (**Zambare et Christopher, 2012**).

2.3.2.1. Généralités sur les bactéries utilisées dans cette étude

Les bactéries sont caractérisées comme des organismes vivants unicellulaires (constitués d'une seule cellule), discernables au microscope et susceptibles de prendre diverses formes : des formes sphériques (coques), des formes allongées ou en bâtonnets (bacilles) ainsi que des formes plus ou moins spiralées (**Nicklin et al., 2000**).

Pour croissance, les bactéries ont besoin de conditions physico-chimiques favorables présentes dans leur environnement, ainsi que d'une alimentation qui satisfait leurs exigences énergétiques essentielles et particulières. D'un point de vue pratique, le milieu de culture créé par l'homme pour l'examen des bactéries répond à ces exigences, et c'est pourquoi on le nomme milieu de culture (**Leclerc et al., 1995**).

Escherichia coli

C'est un bacille mobile, le plus souvent à Gram négatif ; il fait partie de la flore digestive de l'homme et des animaux. C'est l'espèce prédominante de la flore fécale humaine anaérobie (**Clave, 2015**). Elle est capable de causer des maladies chez les individus en bonne santé, comme les maladies entériques/diarrhéiques, les infections des voies urinaires et les septicémies/méningites parmi les pathogènes intestinaux (**Kaper et al., 2004**).

Staphylococcus aureus

Sont des Cocci à Gram positif, immobiles (**Bouskraoui et al., 2017**), C'est une espèce qui se développe rapidement et en grande quantité dans des conditions aérobies. Il est aussi à l'origine d'infections diverses en milieu communautaire comme hospitalier. Il est courant que *S. aureus* développe une résistance aux antibiotiques. La virulence, la faculté à déclencher diverses infections et sa capacité d'adaptation sont les principales inquiétudes concernant ce microbe (**Foster, 2002 ; Nhan et al., 2012 ; Gavanji et al., 2014**).

2.3.3. Activité antifongique

Les diverses formes d'expression du pouvoir pathogène des champignons peuvent être observées, en générant des toxines, ils peuvent causer une intoxication alimentaire ou une mycotoxicose (**Chabasset *al.*, 2002**).

Les infections généralisées sont causées par des champignons pathogènes et ils représentent une question de santé publique majeure à l'échelle mondiale, ces champignons sont présents partout et entretiennent également des relations avec les espèces animales ou végétales, allant du saprophytisme au parasitisme, en incluant parfois le commensalisme, sans oublier leur implication dans des phénomènes de symbiose (**Petosa *et al.*, 2018**).

Les substances produites par les lichens présentent diverses activités biologiques, parmi lesquelles des propriétés antifongiques notables ont été identifiées (**Mitrović *et al.*, 2011**).

Selon **Manojlovic *et al.* (2005)**, l'antraquinone pariétine extraite de *Caloplaca cerina* présente une activité antifongique. Deux ans après, des caractéristiques antifongiques ont été identifiées dans les extraits de lichens andins *Protousnea poeppigii* et *Usnea rigida*, riches en acide divaricatinique, acide isodivaricatinique, acide usnique et 5-résorcinol (**Schmeda-Hirschmann *et al.*, 2008**).

En outre, **Mitrović *et al.* (2011)** ont observé une puissante activité antifongique de *Evernia prunastri* et de *Hypogymnia physodes*. Tandis qu'*Evernia prunastri* avait un impact plus fort sur les levures, *Hypogymnia physodes* se montrait plus efficace contre les champignons filamenteux.

2.4. Généralités sur les espèces étudiées

2.4.1. *Evernia prunastri*

2.4.1.1. Classification taxonomique

Selon **Solak (2016)** *Evernia prunastri* présente la classification taxonomique suivante :

Règne : Fungi

Division : Ascomycota

Classe : Lecanoromycetes

Ordre : Lecanorales

Famille : Parmeliaceae

Genre : *Evernia*

Espèces : *Evernia prunastri*

2.4.1.2. Description botanique

Evernia Prunastri, souvent appelé mousse de chêne ou Oakmoss, pousse principalement sur l'écorce des chênes. Il est aussi capable de coloniser, dans une certaine mesure, les pins, surtout dans des conditions d'humidité élevée à très haute (**Loppi et Frati, 2006 ; Senol et al., 2019**). Ce type de lichen subit des modifications lorsqu'il est soumis à un environnement sec et à une lumière intense. Elle présente aussi une sensibilité amplifiée à la pollution de l'air (**Munzi, 2013 ; Alpsoy et al., 2013**).

Thalle arbustif constitué de lanières plates, mesurant de 3 à 10 cm de hauteur, et formant un réseau ramifié de structures rubanées (**Bellenfant et al., 2010**). Cette espèce présente une face supérieure de teinte gris vert à vert jaunâtre pâle et une face inférieure grisâtre à blanchâtre (**Karabulut et Osturk, 2015**). La couleur d'*Evernia prunastri* varie de vert à blanc verdâtre à l'état sec et de vert olive foncé à jaune vert à l'état frais. Son thalle est foliacé, mais fixé en un seul point, lui conférant une apparence fruticuleuse. La texture du thalle est rugueuse lorsqu'elle est sec et caoutchouteuse lorsqu'elle est humide (**Kosanovic et al., 2013 ; Kolly-Ray et Mangin-Gonze, 2016**).

2.4.1.3. Composition chimique

Les principaux métabolites secondaires d'*Evernia prunastri* sont l'acide évernique, l'acide usnique, ainsi que l'atranorine et chloratranorine, qui se concentrent principalement dans le cortex. De plus, l'acide évernique est également présents dans la médulle du thalle (**Lackovicova et al., 2013**).

2.4.1.3.1. Acide usnique

C'est l'un des composants les plus répandus du lichen et il s'agit de l'acide le plus fréquemment utilisé en médecine. C'est une matière cristalline de teinte jaune qui se dissipe aisément dans le benzène, le chloroforme, l'alcool amylique et l'acide acétique glacial, bien que sa solubilité soit limitée, dans l'éther de pétrole et l'éther diéthylique, et ces derniers ne se dissolvent pas dans l'eau. La concentration en acide usnique des lichens fluctue entre 0.2 % et 4.0 % (**Podterob, 2008 ; Joulain et Tabacchi, 2009**).

2.4.1.3.2. Acide évernique

Il se manifeste sous forme de cristaux qui rappellent ceux de l'acide benzoïque, sans odeur, sans goût, faiblement soluble dans l'eau froide, mais davantage dans l'eau à ébullition. Il est également très soluble dans l'alcool et l'éther. On trouve principalement l'acide evernique dans le thalle, à des niveaux bien plus élevés que l'acide usnique (**Pelouze et Fremy, 1854 ; Ramaut, 1965**).



Figure 03: *Evernia prunastri* (Photo originale, 2025)

2.4.2. *Squamarina cartilaginea*

Le genre *Squamarina*, incluant l'espèce *Squamarina cartilaginea*, se caractérise par la formation de lobes étalés ou d'écailles superposées dans les sols et les roches calcaires. Ces écailles sont dépourvues de cortex supérieur et inférieur. Le genre *Squamarina* est largement répandu et comprend 28 espèces. Bien que les études chimiques sur le genre *Squamarina* soient limitées, un composé a été identifié, la naphtoquinone, également connue sous le nom de squamaron (**Değirmenci et al., 2024**).

Plusieurs recherches sur le genre *Squamarina* révèlent les effets inhibiteurs de l'extrait d'acide usnique de *Squamarina lentigera* contre les bactéries telles que *Bacillus megaterium* et *Bacillus subtilis* (**Cansaran Duman, 2012**). En outre, l'acide psoromique de *Squamarina cartilaginea* a démontré une activité antibactérienne significative contre des pathogènes buccaux tels que *Streptococcus gordonii* et *Porphyromonas gingivalis* (**Sweidan et al., 2017**).

En 1958, le lichénologue Josef Poelt a défini le genre *Squamarina*, l'espèce-type étant *Squamarina gypsacea* (**Poelt, 1958**).

2.4.2.1. Classification taxonomique

La classification de *Squamarina cartilaginea* se présente comme suit :

(https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/58697/tab/taxo: consulté le 01/06/2025 à 15h31)

Règne : Fungi (**Moore, 1980**)

Phylum : Ascomycota (**Caval, 1998**)

Classe : Lecanoromycetes (**Erikss & Winka, 1997**)

Ordre : Lecanorales (**Nannf, 1932**)

Famille: Cladoniaceae (**Zenker, 1827**)

Genre: *Squamarina* (**Poelt, 1958**)

Espèce : *Squamarina cartilaginea* (**James, 1980**)

2.4.2.2. Description botanique

L'espèce *Squamarina cartilaginea*, appartenant au genre *Squamarina*, se caractérise par une large distribution géographique. Les recherches menées à son sujet ont été pour la plupart restreintes et ont couvert des aspects limités de ses activités biologiques. Le thalle, qui correspond à la partie végétative de l'organisme, se présente sous la forme d'un ensemble de squamules foliacées imbriquées et convexes. Sa taille est inférieure à 0,5 mm d'épaisseur, et son aspect varie du blanc au vert légèrement brunâtre, avec des reflets pruineux, principalement présents sur les bords. La face inférieure, de couleur brun foncé à noire, est reliée au substrat par des rhizomorphes

Noirâtres (**Martellos et al., 2023**).

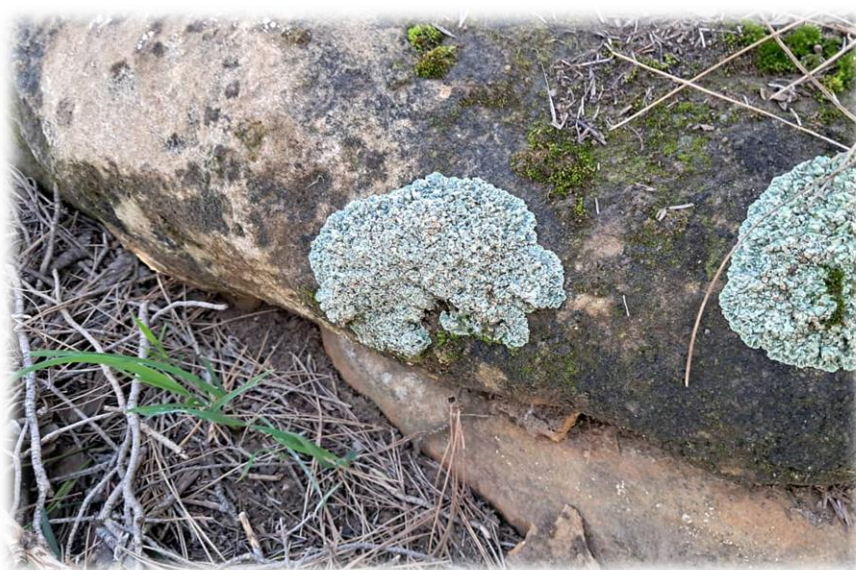


Figure 04 : *Squamarina cartilaginea* (Photo originale, 2025)

Partie 02 :

Expérimentation

Chapitre 03

Matériel et méthodes

3. Matériel et Méthodes

3.1. Objectifs du travail

L'objectif assigné à cette étude est :

- Extraction des composés phénoliques de deux lichens *squamarina cartilaginea* et *Evernia Prunastri* par le biais de la technique de macération.
- Analyse qualitative et quantitative du contenu en polyphénols et tanins condensés de l'extrait méthanolique des deux lichens.
- Evaluation de la bioactivité des extraits, pour une éventuelle valorisation du potentiel antioxydant et antibactérien de ces lichens.

3.2. Lieu et durée du travail

Cette étude expérimentale a été réalisée au niveau des laboratoires de Biochimie du 24/02/2025 au 17/03/2025 et ainsi qu'au laboratoire de Microbiologie du 20/04/2025 au 04/05/2025, de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ibn Khaldoun de Tiaret.

3.3. Présentation du site d'étude

L'étude a été réalisée dans la région de Tiaret, plus précisément au niveau du Djebel Guezoul (**Figure 05**), une zone montagneuse située dans le Nord-Ouest de l'Algérie. Cette région est localisée à une altitude moyenne favorable à la croissance des organismes lichéniques et se caractérise par un climat relativement humide, offrant des conditions propices au développement des lichens. Djebel Guezoul présente une diversité écologique notable, avec des formations végétales variées et des substrats naturels riches. Le choix de cette zone s'explique principalement par l'abondance et la diversité des lichens observés sur place, ce qui en fait un site d'intérêt particulier pour l'étude de ces organismes en tant qu'indicateurs biologiques (**Ait hammou, 2013**).

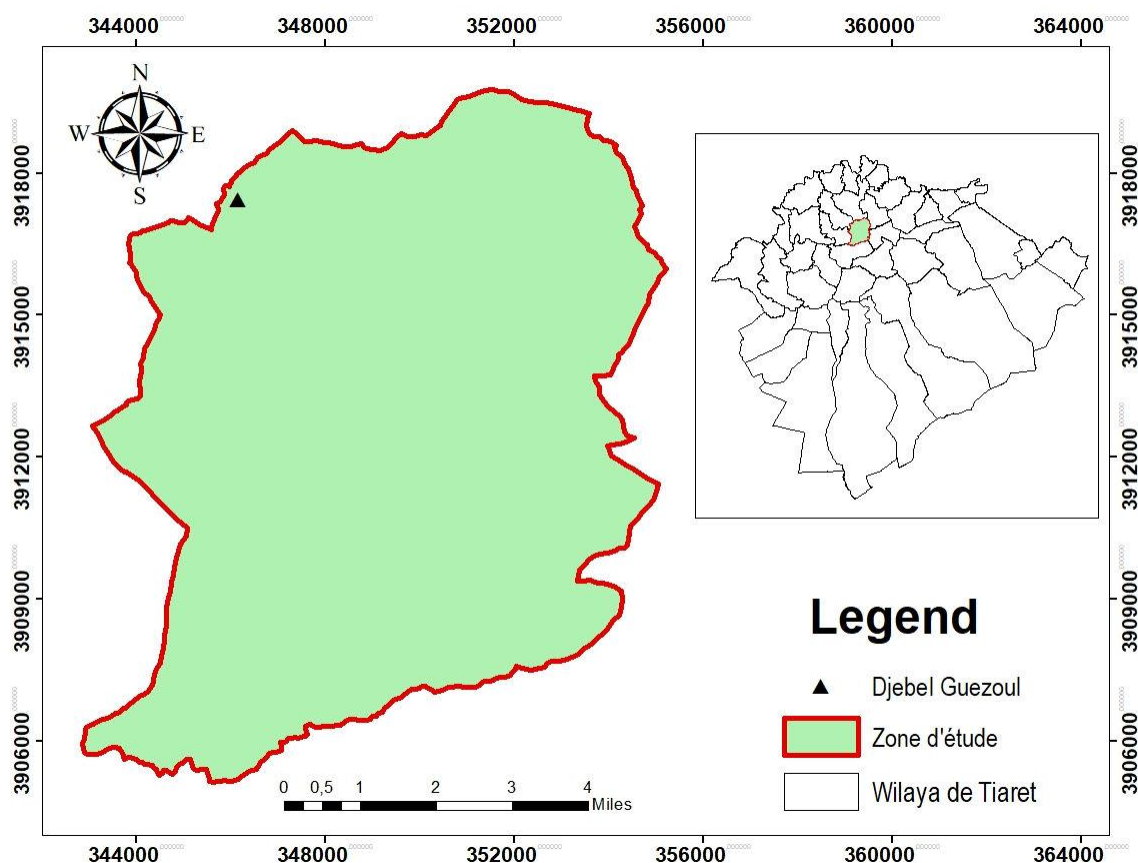


Figure 05: Situation géographique de la zone d'étude

3.4. Matériel

3.4.1. Matériel végétal

Les échantillons des lichens du genre *squamarina cartilaginea* ont été collectés le 18 Février 2025 à Djebel Guezoul dans la wilaya de Tiaret, à partir des troncs d'arbres La collecte des lichens a été faite à l'aide d'un couteau en retirant délicatement l'écorce de l'arbre afin d'éviter d'endommager le thalle (**Figure 06**). Les échantillons lichéniques sont stockés avec leurs étiquettes dans des saches en papier pour une identification future.



Figure 06: *Squamaria cartilaginea* (Photo originale, 2025)

Le deuxième échantillon d'*Evernia prunastri* a été acheté auprès d'un herboriste le 22 Février 2025, ce lichen provient de la région de Tiaret.



Figure 07: *Evernia Prunastri* (Photo originale, 2025)

Les deux lichens ont été identifiés par Pr. AIT HAMMOU Mohamed, botanistes au sein de notre faculté.

3.4.2. Matériel du laboratoire

Appareillages, produits chimiques, verreries et autres

Le tableau suivant présente les différents appareillages, produits chimiques et verreries utilisés dans notre travail.

Tableau 01: Les différents appareillages, produits chimiques et verreries utilisés

Produits chimiques	Appareils, verreries et autres
Méthanol DPPH Hcl Eau distillée Sulfate de cuivre Tarte de sodium et potassium (NAK tartrate) NaOH Fecl ₃ Anhydride acétique Chloroforme Réactifs maeyer Réactif de dragendroff Folin-ciocalteu Carbonate de sodium (Na ² Co ₃) Acide gallique Vanilline NaNO ₂ Acide sulfurique Acide ascorbique Ethanol Papier filtre Persulfate d'ammonium Na ₃ PO ₄ Chlorure de ferhexahydraté Agar nutritif ou Mueller Hinton Disques de filtre Sulfate d'ammonium Eau physiologique	Rotavapeur (Heidolph) Spectrophotomètre (Jenway) Etuve (BINDER) Autoclave (Memmert) Agitateur magnétique Micropipettes (100 µl et 1000 µl) (Accumax) Balance de précision (KERN) Différentes verreries et autres : Tube à essai Bécher Entonnoirs Erlenmeyer Boîtes de pétri Cuves de spectrophotomètre Ecouillons Embouts Pipettes pasteur Microplaques Milieux de cultures Bouillon nutritif Gélose Chapman

3.5. Méthodes adoptées

3.5.1. Séchage et broyage

Les échantillons ont d'abord été lavés à l'eau du robinet pour éliminer les particules de poussière, puis laissés à sécher à l'air libre pendant plusieurs jours. Une fois secs, ils ont été réduits en une poudre fine à l'aide d'un mortier, à fin d'augmenter la surface de contact entre le solvant et le matériel végétal lors de l'extraction (**Figure 08 et 09**). La poudre obtenue a ensuite été stockée dans des flacons en verre hermétiquement fermés, à l'abri de l'air, de l'humidité et de la lumière, pour prévenir toute dégradation.



Figure 08: Broyage de *Squamarina cartilaginea*



Figure 09: Broyage d'*Evernia prunastri*

3.5.2. Extraction par macération

Principe

La macération est une technique d'extraction qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante (**Lagnika, 2005**).

Préparation des extraits méthanoliques

Les extraits ont été préparés par macération de 61,23 g de poudre de lichen *Evernia prunastri* dans 370 ml de méthanol, et 70,09 g de poudre de lichen *Squamarina cartilaginea* dans 200 ml de méthanol, à température ambiante pendant 24h. Après macération nous avons effectué une filtration (**Figure 10**), les solvants ont été évaporés à 50°C à l'aide d'un rotavapeur jusqu'à obtention d'un extrait sec (**Figure 11**). Nous avons répété l'extraction trois fois.

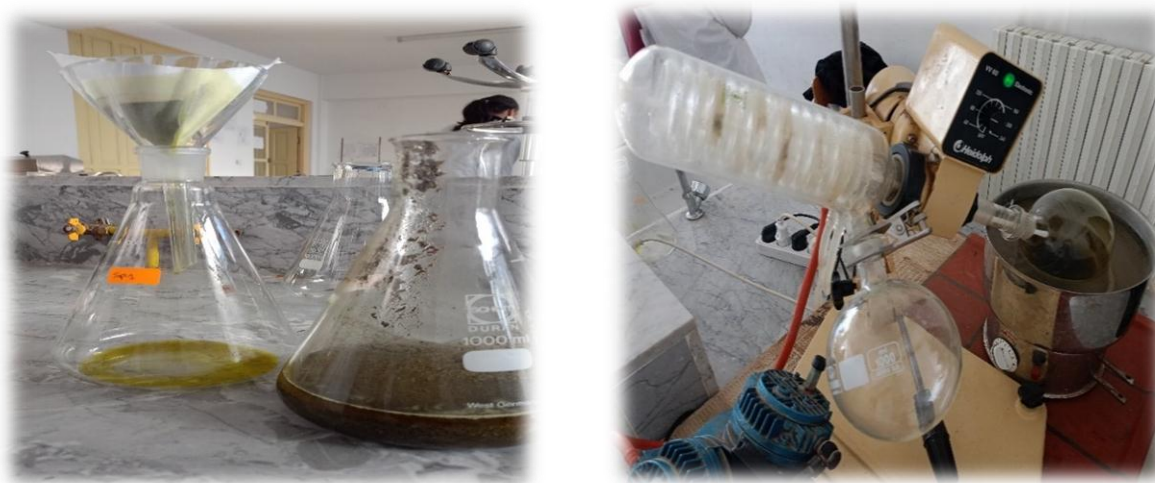


Figure 10: Extraction par macération des deux lichens



Figure 11: Extrait obtenu après évaporation

3.5.3. Calcul du rendement d'extraction

Le calcul du rendement d'extraction est une méthode utilisée pour déterminer l'efficacité d'un processus d'extraction, qui permet de séparer un composant d'intérêt

(comme un principe actif, une molécule ou un extrait) d'un échantillon de plante ou d'une autre matière. Le rendement a été calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = 100 M / M'$$

Où :

- **R** : Rendement d'extraction exprimé en pourcentage (%).
- **M** : Masse de l'extrait obtenu après l'évaporation du solvant. Cela représente la quantité de la substance extrait, en milligrammes (mg).
- **M'** : Masse sèche de l'échantillon de plante avant l'extraction, également en milligrammes (mg).

3.6. Étude phytochimique

3.6.1. Screening phytochimique

Les extraits méthanoliques sont soumis à des tests phytochimiques standards afin de mettre en évidence les métabolites secondaires responsables des activités biologiques. Il s'agit d'une étude qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation visant à détecter quelques grands groupes chimiques ou métabolites secondaires, tels que les alcaloïdes, flavonoïdes, tanins, anthraquinones, saponosides, stérols, terpènes, glycosides cardiaques, etc. Ces métabolites sont des substances bioactives dotées de diverses propriétés, largement exploitées en phytothérapie. Les tests sont effectués sur les extraits végétaux selon des méthodes standards.

3.6.1.1. Test pour les Saponines

5 ml d'eau distillée ont été mélangés avec l'extrait méthanolique dans un tube à essai, puis agités vigoureusement. L'apparition de mousse a indiqué la présence de saponines (**kadri, 2021**).

3.6.1.2. Test pour les sucres réducteurs (Test de Fehling)

2 ml de l'extrait méthanolique ont été ajoutés à une solution bouillante de Fehling (solutions A et B) dans un tube à essai. L'obtention d'un précipité rouge brique a confirmé la présence de composés réducteurs (**Ayoola et al., 2008**).

3.6.1.3. Test pour les tanins

À 2 ml de solution méthanolique de chaque extrait, 2 gouttes de chlorure ferrique (solution de $FeCl_3$ diluée à 1 %) ont été ajoutées. L'apparition d'une couleur vert foncé

indique la présence de tanins catéchéiques, tandis qu'une couleur bleu-vert signale la présence de tanins galliques (**Kamal et al., 2012**).

3.6.1.4. Test pour les stérols et les triterpènes

Les stérols et les triterpènes ont été recherchés par la réaction de Liebermann. 5 ml de l'extrait méthanolique ont été évaporés. Le résidu a été dissous à chaud dans 1 ml d'anhydride acétique et 1 ml de chloroforme, puis 1 ml d'acide sulfurique concentré a été ajouté. L'apparition d'un anneau violet à l'interface, qui devient bleu puis vert, indique une réaction positive (**Yam et al., 2009**).

3.6.1.5. Alcaloïdes (Test de Dragendorff)

2 ml d'extrait combiné à 2 ml de solution de Dragendorff. Formation d'un précipité de teinte rouge brun (**Sushama Raj, 2017**).

3.6.1.6. Test pour les Coumarines

Test à la soude (NaOH) : 2 ml de l'extrait ont été traités avec 3 ml de soude caustique à 10 % dans un tube à essai. Si la solution prend une couleur jaune, cela indique la présence de coumarines (**kadri, 2021**).

3.6.1.7. Test polyphénols (Réaction avec le chlorure de fer)

Mélanger 2 ml d'extrait avec quelques gouttes de solution de chlorure de fer (FeCl_3) à 5%. On observe l'apparition d'une coloration bleu-noir ouvert plus ou moins foncé (**Prakash et al., 2015**).

3.6.1.8. Anthocyanines (Réaction de détection)

5 ml de l'extrait, combiné avec 5 ml d'acide sulfurique à 10%, et quelques gouttes d'hydroxyde d'ammonium. Survenue d'une teinte bleue ou violacée (**Parekh et Chanda, 2007**).

3.6.1.9. Test pour glycosides cardiaques (Réaction de détection)

On ajoute 2 ml de chloroforme à 1 ml de l'extrait, et l'apparition d'une teinte brun-rougeâtre suite à l'ajout de H_2SO_4 (ajoutez-le progressivement goutte à goutte) indique la présence de glycosides cardiaques (**Yam et al., 2009**).

3.6.1.10. Quinones libres (Test de détection)

On a déposé un gramme de matière végétale sèche broyée dans un tube contenant 15 à 30 ml d'éther de pétrole. Suite à une agitation suivie d'une période de repos de 24 heures, les extraits sont filtrés et concentrés à l'aide d'un rotavaporateur. L'apparition de

quinones libres est corroborée par l'ajout de quelques gouttes de NaOH 1/10, lorsque la phase aqueuse devient jaune, rouge ou violette (El-Haoud et al., 2018).

3.6.1.11. Huiles essentielles (Test organoleptique)

1 g de matière végétale a été inséré dans 10 ml de dichlorométhane, après quoi l'extrait a été évaporé jusqu'à obtenir un résidu sec. Par la suite, le résidu a été dissous dans 3 ml d'éthanol. Ensuite, la solution a de nouveau été évaporée à sec. La détection d'un parfum signale la présence d'huiles essentielles (El-Haoud et al., 2018).

3.6.2. Détermination quantitative

3.6.2.1. Dosage des polyphénols totaux

Le protocole utilisé pour ce dosage est décrit par Dewanto et al. (2002). Un volume de 125µl des différents extraits à des concentrations initiales définies, est mélangé avec 500µl d'eau distillée et 125µl du réactif de Folin-Ciocalteu 10 fois dilué. Le mélange est vigoureusement agité et laissé pendant 6 mn au repos. Ensuite un volume de 1250 µl d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7% est ajouté au mélange précédent et le volume final est ajusté à 3 ml avec de l'eau distillée. Les tubes sont conservés à l'obscurité, à température ambiante pendant 90 mn. L'absorbance est mesurée à 760 nm.

Le contenu phénolique total des extraits est calculé à partir de courbe étalon de l'acide gallique, réalisée dans les mêmes conditions d'analyses. Les teneurs en polyphénols totaux dans les extraits sont exprimées en milligramme (mg) équivalent acide gallique par gramme (g) du poids de la matière sèche (mg EAG/ g MS).

3.6.2.2. Dosage des tanins condensés

La teneur des tanins condensée a été déterminé par la méthode de Makkar (2003) 1 ml d'extraits est ajouté à 2 ml de solution vanilline 1% (1g de vanilline dissout dans 100 ml d'acide sulfurique, après incubation pendant 20 min à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 500 nm.

3.6.3. Activité antioxydante

Test du piégeage du radical libre DPPH

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits a été réalisée en utilisant le test du radical libre stable DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), selon la méthode décrite par **Benariba et al., (2013)**, avec quelques modifications.

- Préparation de la solution de DPPH

Une masse de **4,1 mg de DPPH** a été dissoute dans **100 ml de méthanol pur** afin d'obtenir une solution de DPPH à utiliser dans le test.

- Préparation des échantillons

Des extraits à des concentrations bien définies ont été préparés dans du méthanol. À partir de ces solutions-mères, des dilutions successives ont été réalisées afin d'obtenir une série de concentrations décroissantes (1/128, 1/64, 1/32, 1/16, 1/8, etc.). Pour chaque dilution, 1 ml de l'extrait a été mélangé avec 1 ml de la solution de DPPH. Les mélanges ont été agités, puis incubés à température ambiante, à l'abri de la lumière, pendant 30 minutes. L'absorbance a ensuite été mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. L'activité antioxydante a été exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH, calculé selon la formule suivante :

$$I\% = (AC-AT) / AC * 100$$

- **AC** : Absorbance du contrôle négatif (DPPH + MeOH).
- **AT** : Absorbance de l'extrait.

Plus le pourcentage d'inhibition est élevé, plus la capacité antioxydante de l'extrait est importante.

Les résultats obtenus ont permis de tracer les courbes dose-réponse et de déterminer, pour chaque extrait, la concentration inhibitrice médiane (IC₅₀), qui correspond à la concentration nécessaire pour réduire 50 % des radicaux DPPH.

3.6.4. Activité antibactérienne

3.6.4.1. Souches bactériennes testées

L'activité antibactérienne a été évaluée vis-à-vis de deux bactéries (Gram+ et Gram-) à caractère pathogène. Notre choix d'étude s'est porté sur ces types, car chacune d'elle possède des structures cellulaires et un métabolisme particulier. Ces souches pathogènes utilisées sont parmi celles qui causent les maladies les plus courantes, ce sont

des contaminants fréquents, provoquant ainsi des infections importantes. Nous avons utilisé dans cette étude des souches de référence ATCC, dont les caractéristiques sont mentionnées dans le tableau 02.

Le repiquage des souches, réalisé à partir de tubes inclinés conservés à -4 °C fournis par le laboratoire de microbiologie, visait à obtenir des cultures jeunes et pures en ensemençant en stries des milieux sélectifs, Chapman pour *S. aureus* et Hektoen pour *E. coli*. La standardisation des suspensions microbiennes a été effectuée en prélevant des colonies jeunes cultivées pendant 18h, puis en les dispersant dans 9 ml d'eau physiologique et homogénéisées au vortex. La densité des suspensions a été mesurée à 600 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, et ajustée à une turbidité de 0,5 McFarland, équivalente à une charge microbienne de 10^7 UFC.

Tableau 02: Souches microbiennes utilisées

Souches bactériennes	Référence
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 43300

3.6.4.2. Méthode d'antibiogramme

Il s'agit d'une technique qui vise à tester la sensibilité d'une bactérie à un ou à plusieurs antibiotiques. Le principe consiste à placer la culture des bactéries en présence des antibiotiques, et observer la conséquence sur le développement de celles-ci. Selon le diamètre du cercle qui entoure le disque d'antibiotique on obtient : des souches résistantes ou sensibles (Ellatifi, 2011).

La préparation des antibiogrammes est réalisée par écouvillonnage en utilisant la gélose de Mueller Hinton.

3.6.4.3. Méthode de diffusion sur milieu solide (Méthode des disques)

Principe

C'est la technique la plus répandue et couramment employée qui implique l'ensemencement d'une suspension bactérienne sur un milieu gélosé, dans une boîte de Petri. On imprègne ensuite la substance à examiner sur un disque en cellulose, qui est lui-même placé sur la boîte de Petri. Suite à l'incubation, l'activité antibactérienne,

lorsqu'elle se manifeste, est visible sous la forme d'un halo inhibiteur autour du disque (Fontanay et al., 2015).

Mode opératoire

Cette technique consiste à ensemencer par écouvillonnage l'inoculum standardisé (107 UFC/ml) en surface du milieu Mueller Hinton. Une solution mère de chaque extrait a été préparée à une concentration de 20 mg/ml, à partir de laquelle 40 µl ont été déposés dans des puits réalisés à l'aide d'une pipette Pasteur sur la gélose préalablement ensemencée. Les boîtes de Pétri ont ensuite été incubées à 37 °C (Figure 12).



Figure 12: Ensemencement de la suspension bactérienne dans un milieu gélosé

3.6.4.4. Méthode de micro-dilution en milieu liquide La CMI (Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est souvent définie comme la concentration la plus basse d'un agent antimicrobien capable d'inhiber la croissance visible d'un microorganisme spécifique après une période d'incubation de 24 heures (Ganière et al., 2004).

Principe

Sur des microplaques de 96 puits (Figure 13), des dilutions en série de l'extrait, correctement solubilisés, ont été mises en place, l'inoculum préparé a été ajouté à chaque puits pour atteindre une densité cellulaire spécifique. Après incubation, la CMI est définie comme étant la concentration minimale capable d'empêcher toute croissance microbienne visible à l'œil nu du premier puits, et qui ne présente ni trouble ni dépôt bactérien (Ben Abdallah et al., 2019).

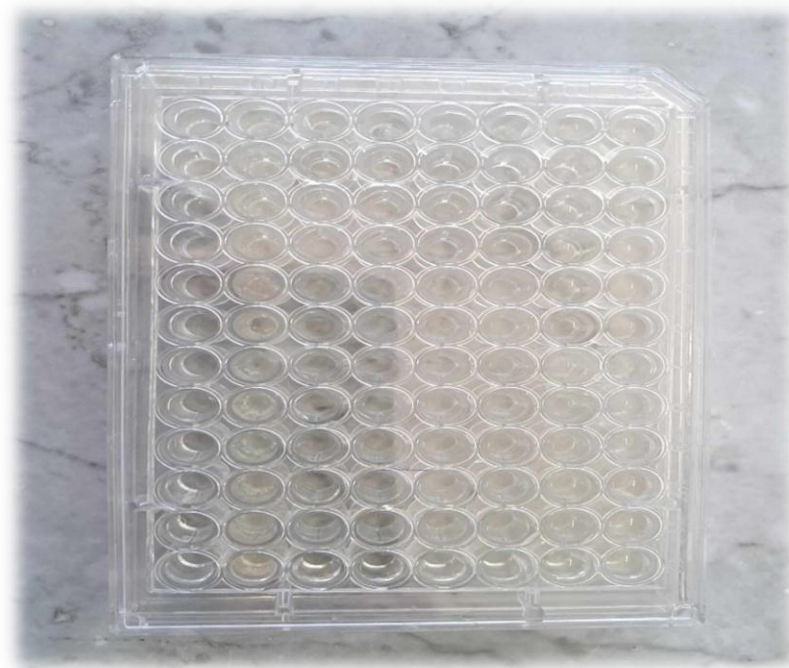


Figure 13: Microdilution en milieu liquide (CMI)

Mode opératoire

Les CMI ont été effectuées selon la méthode de micro dilution sur des microplaques en polystyrène à 96 puits. Des dilutions en série de l'extrait ont été réalisées sur une microplaque, avec des concentrations finales allant de 20 mg/ml à 1,25 mg/ml dans du bouillon nutritif. L'inoculum préparé (106 UFC/ml) a été ajouté à chaque puits. Un témoin négatif, contenant uniquement le milieu de culture ensemencé par la suspension microbienne, a été inclus. Après incubation, la concentration minimale inhibitrice (CMI) a été définie comme la plus faible concentration ne présentant aucune croissance microbienne visible à l'extrait (**Figure 13**) (Touré, 2014 ; Shakil et al., 2015).

3.6.4.5. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La concentration minimale bactéricide (CMB) a ensuite été déterminée en repiquant le contenu des puits ne montrant aucune croissance visible sur une gélose appropriée ; la CMB correspond à la plus faible concentration pour laquelle aucune croissance microbienne n'est observée après incubation (**Figure 14**) (Moroh et al., 2008 ; Konan, 2015 ; Kouadio et al., 2015).

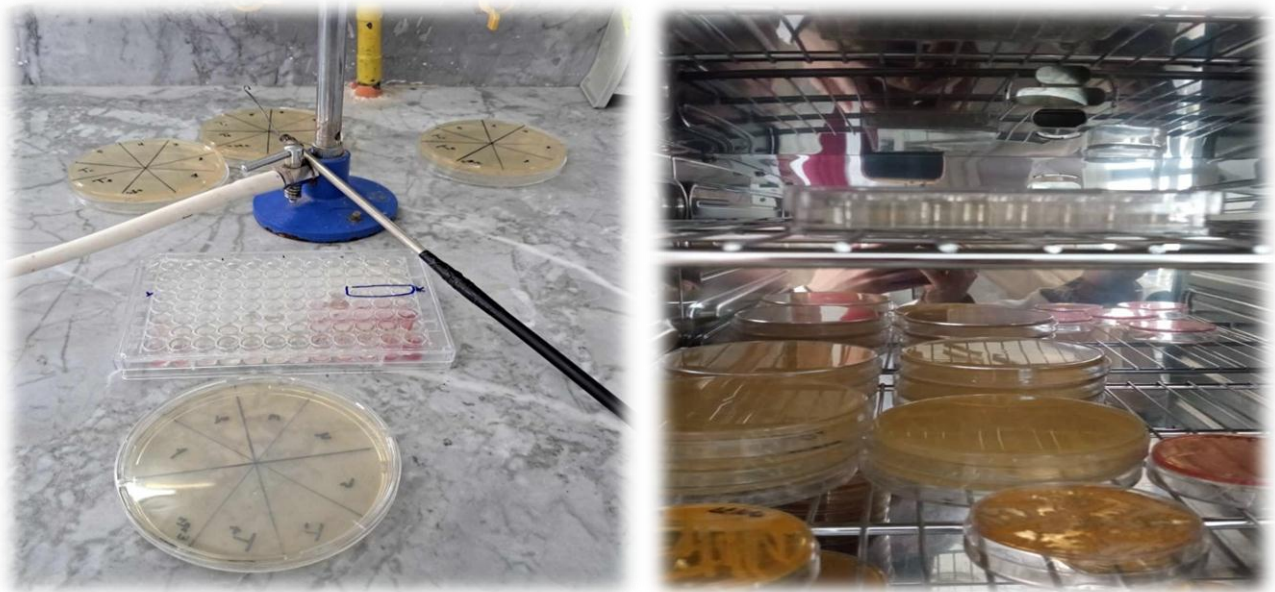
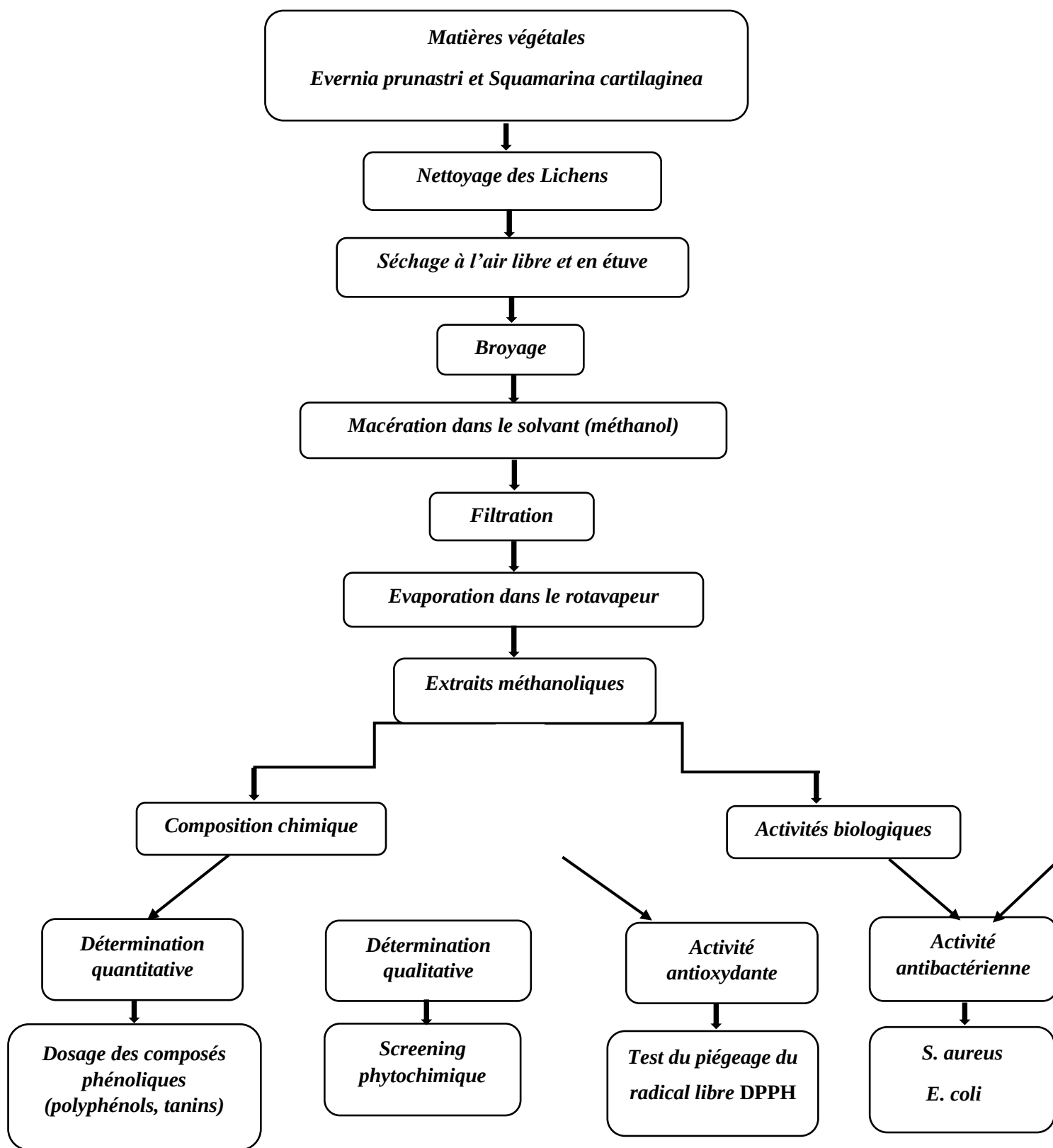


Figure 14: Différentes étapes de la CMI et la CMB

**Figure 15:** Organigramme des différentes étapes de l'étude

Chapitre 04 :

Résultats et discussion

4. Résultats et discussions

4.1. Rendement d'extraction

Après évaporation à sec sous vide, le poids des extraits méthanoliques obtenus ont été mesuré. L'efficacité de ces extraits a été déterminée en évaluant le rapport entre la quantité d'extrait brut 1 obtenu et la masse initiale de la matière végétale sèche. Le tableau ci-dessous illustre le rendement des extraits méthanoliques ainsi que l'aspect et la couleur des lichens étudiés.

Tableau 03: Rendement des extraits méthanolique des deux lichens utilisés

Echantillons	Rendement (%)	Aspect	Couleur
<i>Evernia Prunastri</i>	4%	Visqueux	Vert
<i>Squamarina Cartilaginea</i>	1.5%	Visqueux	Vert

On remarque que le rendement d'extraction de l'extrait méthanolique d'*Evernia Prunastri* (4%) est supérieur à celui de *Squamarina Cartilaginea* (1.5%).

L'extraction par macération au méthanol de *Squamarina Cartilaginea* a enregistré un rendement inférieur à celui trouvé par **Degirmenci et al. (2024)**, qui ont enregistré une valeur de 2% pour la même espèce. Par contre, **Aoussar et al. (2021)** ont enregistré un rendement largement supérieur (8%) à celui déterminé par d'*Evernia prunastri*.

D'après **Michel et al. (2012)**, le rendement des extractions est influencé par le type de solvant utilisé et les caractéristiques chimiques des molécules ciblées pour l'extraction. Par ailleurs, le procédé d'extraction (macération, décoction, infusion) tient aussi un rôle majeur dans la détermination du rendement et de la composition chimique de l'extrait élaboré (**Tefiani, 2015**). Les fluctuations du rendement sont liées aux propriétés des plantes ainsi qu'à l'origine géographique, aussi par la saison de récolte (**Daoudi et al., 2015**) et aux conditions et à la durée de stockage de la récolte ainsi qu'aux conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée (**Lee et al., 2003**).

L'extraction des composés phénoliques à partir de la matière végétale dépend de leur structure chimique, du type de solvant utilisé, de la méthode d'extraction et du temps de macération. Les extraits phénoliques des plantes sont généralement des mélanges des différentes classes de composés phénoliques qui sont solubles dans le solvant utilisé. La solubilité de ces derniers dépend du type de solvant utilisé (polarité) et leur degré de polymérisation (**Felhi et al., 2017**).

4.2. Résultats des analyses phytochimiques

4.2.1. Détermination qualitative

L'analyse photochimique a révélé la présence de métabolites secondaires dans les lichens. L'identification de ces composés chimiques repose sur des réactions de précipitation et une modification de couleur distincte.

Les tests de screening photochimiques réalisés sur nos extraits, sont présentés dans le tableau 04.

Tableau 04: Paramètres phytochimiques des deux lichens

Paramètre	<i>Evernia Prunastri</i>	<i>Squamarina Cartilaginea</i>	Observations
Polyphénols	+++	+++	Apparition d'une coloration vert foncé
Tanins	-++	+++	Apparition d'une couleur vert foncé indique la présence de tanins catéchéiques dans les deux lichens
Saponines	+++	+++	Formation d'une mousse
Alcaloïdes	+--	---	Formation d'un précipité de coloration rouge brun dans <i>E. prunastri</i>
Sucres réducteurs	---	---	Absence d'un précipité rouge brique
Stérols et Triterpènes	---	+++	Apparition d'un anneau violet dans <i>S. Cartilaginea</i>
Les Coumarines	---	---	Absence de la couleur jaune
Les Glycosides cardiaques	+++	+--	Apparition d'une coloration brun-rougeâtre dans les deux espèces
Quinones libres	+++	---	Apparition d'une coloration jaune dans <i>E. Prunastri</i>
Huiles essentielles	+++	+++	Sensation d'une odeur parfumée
Anthocyanines	---	---	Absence d'une coloration bleue ou violée

Les résultats du screening phytochimique indiquent que les deux espèces de lichens possèdent une richesse en composés phénoliques, notamment les polyphénols, les tanins et d'autres composés telle que les saponines, qui sont largement reconnus pour leurs propriétés antioxydantes et antimicrobiennes. La présence marquée d'huiles essentielles dans les deux extraits est également notable, suggérant un potentiel biologique étendu (antiseptique, antifongique, anti-inflammatoire).

Les différences entre les deux espèces sont particulièrement intéressantes sur le plan chimique et taxonomique :

- *Evernia prunastri* présente des quinones libres, des alcaloïdes et des glycosides cardiaques, absents ou faiblement représentés dans *S. cartilaginea*.
- En revanche, *S. cartilaginea* est particulièrement riche en stérols et triterpènes, des composés lipidiques souvent impliqués dans la stabilité membranaire et les effets anti-inflammatoires.

Ces résultats concordent partiellement avec les travaux de **Roshimi et Rajkumar (2014)**, qui ont mis en évidence la présence de saponines, alcaloïdes, terpènes et flavonoïdes dans divers extraits de lichens, tout en notant l'absence de glycosides. En revanche, notre étude révèle une présence nette de glycosides cardiaques, ce qui pourrait être lié aux différences d'espèces ou de méthodologie (solvant, concentration, nature du substrat).

D'autres recherches, comme celle de **Kout et al. (2018)**, confirment la détection de polyphénols et tanins dans plusieurs espèces lichéniques (*Xanthoria parietina*, entre autres), soulignant la constance de ces composés dans les extraits lichéniques, surtout ceux récoltés sur substrat arboré ou minéral.

Dans le but de valoriser les résultats issus du criblage phytochimique, le tableau ci-dessous synthétise les principales classes de métabolites secondaires identifiées dans les extraits d'*Evernia prunastri* et *Squamarina cartilaginea*, en y associant leurs activités biologiques reconnues dans la littérature. Cette mise en perspective permet de mieux appréhender le potentiel pharmacologique de ces espèces lichéniques.

Tableau 05: Principaux métabolites secondaires détectés et leurs activités biologiques rapportées dans la littérature

Classe de métabolites	Activités biologiques rapportées	Références bibliographiques
Polyphénols	Antioxydante, anti-inflammatoire, antimicrobienne, antidiabétique, anti-âge, antitumorale/anticancéreuse et cytotoxique.	Bolat et <i>al.</i> , (2024)
Tanins	Antioxydante, antivirale, astringente, antimicrobienne	Cosme et <i>al.</i> , (2025)
Saponines	Antifongique, cytotoxique, immunostimulante	Sharma et <i>al.</i> , (2023), Shen et <i>al.</i> , (2023)
Alcaloïdes	Propriétés antivirales, antibactériennes, anti-inflammatoires et anticancéreuses	Adamski et <i>al.</i> , (2020)
Stérols et triterpènes	Anti-inflammatoire, anti-cancer, antitumoral	Loza-Mejía et Salazar, (2015), Lukić et <i>al.</i> , (2021)
Glycosides cardiaques	Cardiotonique, diurétique (à surveiller pour toxicité potentielle)	Fu et <i>al.</i> , (2019), Akinmoladun et <i>al.</i> , (2014)
Quinones libres	Actions anticancéreuses, antidiabétiques, anti-inflammatoires, antifongiques, antibactériennes	Patel et <i>al.</i> , (2020)
Huiles essentielles	Antioxydante, antimicrobienne, insecticide	De Sousa et <i>al.</i> , (2023), Youssfi et <i>al.</i> , (2024)

4.2.2. Détermination quantitative

Dans le but d'évaluer les teneurs en molécules actives des extraits méthanoliques des deux espèces étudiées, des dosages de phénols totaux et des tanins condensés ont été effectués.

4.2.2.1. Détermination de la teneur des phénols totaux

Nous avons déterminé la concentration de phénols totaux dans nos extraits méthanoliques en utilisant la méthode spectrophotométrique basée sur le réactif de Folin-Ciocalteu, l'acide gallique est utilisé comme standard. Cela nous a permis d'établir une courbe d'étalonnage dont la formule de régression linéaire est $y = 3,4449x + 0,2852$ avec un coefficient de détermination $R^2 = 0,9866$ (Figure 16).

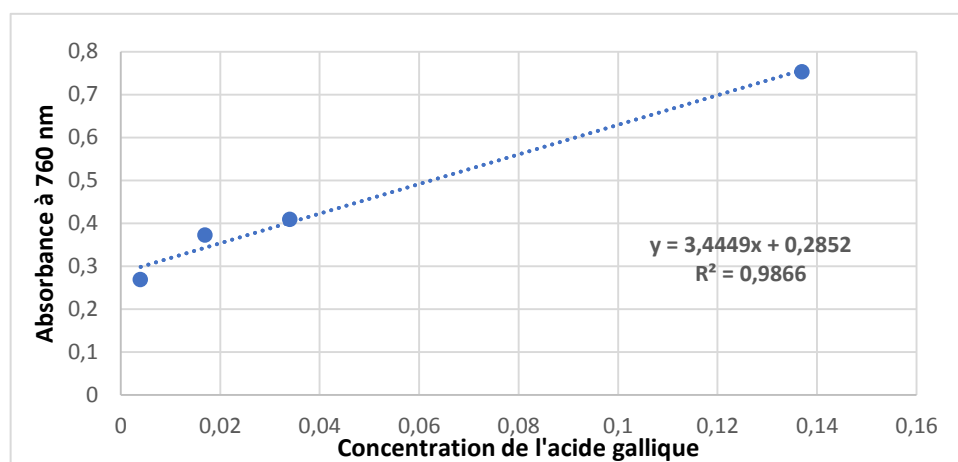


Figure 16: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits méthanoliques des deux espèces sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 06: Teneurs en phénols totaux, des extraits méthanolique de *E. prunastri*, *S.cartilaginea*

Espèces	Moyennes des polyphénols totaux (mg EAG/g Ms)
<i>E. prunastri</i>	13,12 mg EAG/g Ms
<i>S. cartilaginea</i>	6.19 mg EAG/g Ms

Selon le tableau 06, la concentration en composés phénoliques est notablement plus importante pour le lichen *E. prunastri* (**13,12 mg EAG/g Ms**) par rapport à celle du lichen *S. cartilaginea* (**6,19 mg EAG/g Ms**).

L'étude réalisée par **Esteban (2012)**, confirme la présence de différents composés phénoliques, y compris les phénols totaux, les flavonoides et les tanins dans l'extrait méthanolique d'*Evernia prunastri*.

Mitrović et al. (2011), enregistrent pour l'espèce d'*Evernia prunastri* en provenance de Sibérie des quantités en composés phénoliques nettement supérieurs (**80,73 mg/g**) à celle trouvée dans notre étude.

Une autre recherche réalisée par **Belhouala et al. (2024)** a indiqué une concentration globale de composés phénoliques de **280,83 µg GAE/mg** dans l'extrait méthanolique d'*Evernia prunastri*, ce qui dépasse largement notre valeur mesurée.

Selon **Değirmenci et al. (2024)**, le total de phénols dans l'extrait de *S. cartilaginea* a été établi à **44,72 mg GAE/g**, cette dernière varie considérablement en comparaison avec notre étude pour la même espèce.

D'après **Falleh et al. (2008)**, les concentrations des métabolites secondaires peuvent avoir des concentrations différentes au cours du développement du lichen. Cela peut être associé aux conditions météorologiques difficiles (haute température, exposition au soleil, sécheresse), qui encouragent la biosynthèse des métabolites secondaires comme les polyphénols.

Doğan et al. (2022), et aussi **Belmokhtar (2015)**, déclarent que les conditions d'extraction, la nature chimique des composés, le type de solvant, la méthode d'analyse, la sélection des standards et la présence de substances interférentes, sont susceptibles d'influencer les résultats de la teneur des extraits en polyphénols.

4.2.2.2. Détermination de la Teneur des Tanins condensés

Nous avons déterminé la concentration des tanins condensés dans nos extraits méthanoliques en utilisant la méthode de **Makkar (2003)**, le dosage des tanins est donné par la gamme étalon de **Figure 17**. La courbe de régression linéaire de formule $y = 12,81x + 0,232$ avec un coefficient de détermination $R^2 = 0,997$ été établie en utilisant la catéchine comme standard pour le dosage des tanins condensés.

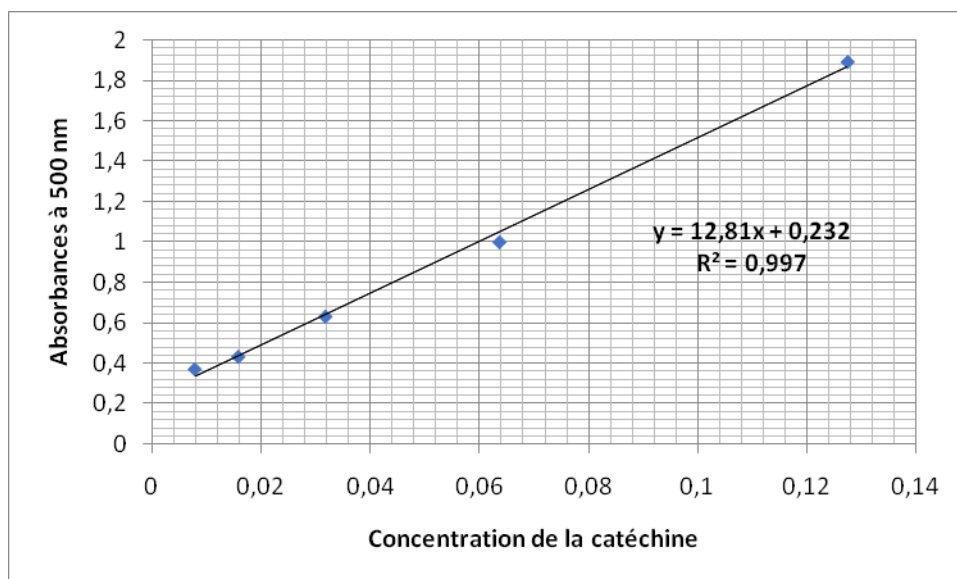


Figure 17: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés (Ait abderrahim, 2024)

Les teneurs en tanins condensés des extraits méthanoliques des deux espèces sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 07: Teneurs des tanins condensés des extrais méthanolique de *E. prunastri*, *S. cartilaginea*

Espèces	Tannins condensés mg EC/g Ms
<i>E. prunastri</i>	132 mg EC/g Ms
<i>S. cartilaginea</i>	62,74 mg EC/g Ms

Selon le tableau 07, la concentration en tanins condensés est notablement plus importante pour le lichen *E. prunastri* (132 mg EC/g Ms) par rapport à celle du lichen *S. cartilaginea* (62,74 mg EC/g Ms).

D'après Belhouala et al. (2024) les extraits méthanoliques d'*E. prunastri* affichaient un niveau de tanins atteignant 201,05 µg CE/mg, supérieur à celui que nous avons obtenu.

D'après Tlili (2016), les feuilles du lichen de *Pergularia tomentosa* a montré que l'extrait de ce dernier est très riche en tanins condensés, avec un taux de 61,06 mg ECT/g E. Toutefois il est difficile de comparer nos résultats avec ceux de la littérature. En effet, les données disponibles sur la composition en tanins du lichen *S. cartilaginea* restent limitées. La teneur mesurée dans notre recherche est relativement modeste comparée à *E. prunastri*.

4.3. Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante

4.3.1. Evaluation du pouvoir antioxydant (Test de DPPH)

Afin d'évaluer le pouvoir antioxydant des extraits méthanoliques des deux espèces lichéniques (*Squamarina cartilaginea* et *Evernia prunastri*), le test de piégeage du radical libre DPPH a été réalisé. Ce test permet de déterminer la concentration inhibitrice 50 % (IC_{50}), définie comme la concentration d'un échantillon requise pour inhiber 50 % des radicaux libres présents. Une diminution de l'absorbance du radical DPPH à 517 nm traduit une activité antioxydante, cette réduction étant proportionnelle à la capacité de l'échantillon à neutraliser les radicaux libres (Brand-Williams et al., 1995).

Selon Molyneux (2004), plus la valeur de IC_{50} est faible, plus l'extrait est considéré comme actif, car une faible concentration suffit à produire un effet inhibiteur significatif, témoignant d'un pouvoir antioxydant élevé.

L'extrait méthanolique de *S. cartilaginea* a montré une activité antioxydante intéressante, avec une valeur IC_{50} de 3,32 mg/ml, relativement proche de celle de l'acide ascorbique utilisé comme standard (3,16 mg/ml), ce qui reflète une bonne capacité antiradicalaire (Figure 18).

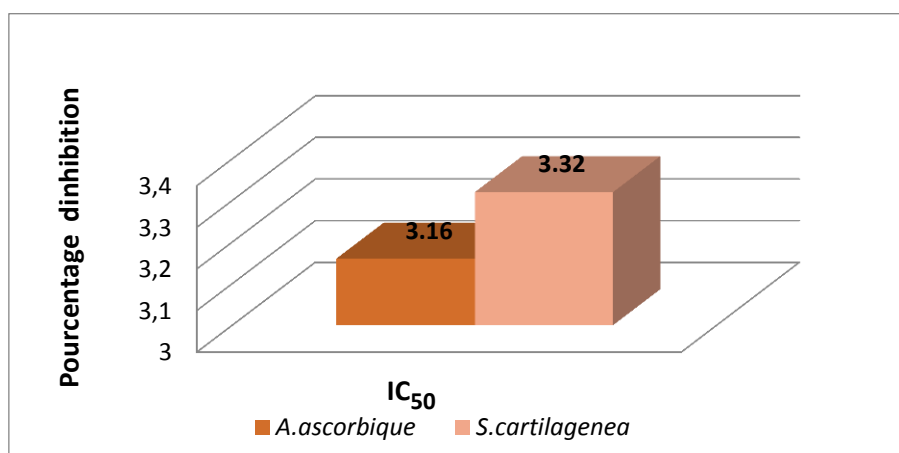


Figure 18: Comparaison des IC_{50} de *Squamarina cartilaginea* et de l'acide ascorbique

Cette activité pourrait être attribuée à la présence de composés phénoliques et autres métabolites secondaires aux propriétés antioxydantes bien établies (Cowan, 1999 ; Manojlović et al., 2012). Değirmenci et al. (2024) ont également observé que l'extrait de *S. cartilaginea* piégeait efficacement les radicaux DPPH, de manière dose-dépendante, en conditions de pH physiologique, concluant à une activité antioxydante modérée. Mendili et al. (2021) ont, quant à eux, rapporté une IC_{50} de 0,9 µg/ml pour cet extrait, confirmant un potentiel antioxydant remarquable comparé à d'autres lichens.

Concernant *E. prunastri*, le test DPPH a révélé une IC_{50} de 14,82 mg/ml, nettement plus élevée que celle de l'acide ascorbique (3,16 mg/ml), indiquant une activité antioxydante relativement faible (**Figure 19**).

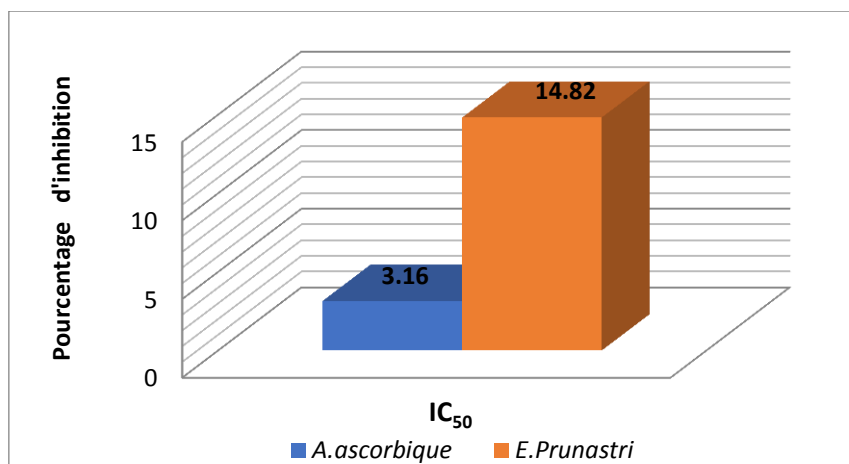


Figure 19: Comparaison des IC_{50} de *Evernia prunastri* et de l'acide ascorbique

Cette faible efficacité peut être liée à une concentration réduite en composés phénoliques ou flavonoïdiques dans l'extrait. Cependant, *E. prunastri* pourrait contenir d'autres types de métabolites secondaires présentant des propriétés biologiques différentes, comme des effets antimicrobiens ou anti-inflammatoires, qui mériteraient d'être explorés plus en détail.

Mitrović et al. (2011) ont rapporté de faibles teneurs en phénols totaux (80,73 mg/g) et en flavonoïdes (27,46 mg/g) pour cette espèce. À l'inverse, **Taş et al. (2019)** ont observé des teneurs plus élevées ainsi qu'une IC_{50} de 398,2 µg/ml, montrant une certaine variabilité selon les conditions d'extraction ou les origines géographiques.

Ces résultats indiquent que *S. cartilaginea* possède une activité antioxydante comparable à celle de l'acide ascorbique, tandis que *E. prunastri* présente un effet beaucoup plus modeste, nécessitant une concentration plus élevée pour atteindre le même niveau d'inhibition. Cette différence peut être expliquée par la composition chimique distincte des deux espèces, notamment leur richesse respective en composés phénoliques, depsides ou depsidones, reconnus pour leur activité antiradicalaire (**Ranković, 2015 ; Manojlović et al., 2012**).

4.4. Résultats de l'activité antibactérienne

4.4.1. Mesure des diamètres des zones d'inhibition

Le Tableau ci-dessous présente les résultats du test de diffusion en disque pour les extraits méthanoliques de *S. cartilaginea* et *E. prunastri*, ainsi que pour l'antibiotique chloramphénicol, testés contre *S. aureus* et *E. coli*. Les deux extraits ont montré une activité antibactérienne à toutes les concentrations évaluées (solution mère, dilutions 1/10 et 1/100), révélée par la présence de zones d'inhibition.

Tableau 08: Diamètre des zones d'inhibition des extraits méthanoliques de *S. Cartilaginea* et *E. Prunastri* contre *S. aureus* et *E. coli*.

Agents antimicrobiens		<i>S. aureus</i> (mm)	<i>E. coli</i> (mm)
Chloramphénicol (30µg)		25	27
<i>E. Prunastri</i>	SM	15	11
	1/10	10	9
	1/100	8	8
<i>S. Cartilaginea</i>	SM	10	9
	1/10	12	8
	1/100	9	6

SM : Solution mère

L'extrait méthanolique d'*E. prunastri* a généré des zones d'inhibition dont le diamètre variait de 8 à 15 mm (**Figure 20**), tandis que celui de *S. cartilaginea* a produit des zones allant de 6 à 12 mm (**Figure 21**). En comparaison, le chloramphénicol, utilisé comme témoin positif, a exercé un effet inhibiteur plus important, avec des diamètres de 25 mm pour *S. aureus* et 27 mm pour *E. coli*.

Ces résultats montrent que les deux souches bactériennes sont sensibles à l'extrait méthanolique d'*E. Prunastri*, qui a présenté des diamètres d'inhibition de 15, 11 et 10 mm selon la concentration. L'activité antibactérienne diminue toutefois avec la réduction de la concentration, confirmant un effet dose-dépendant.

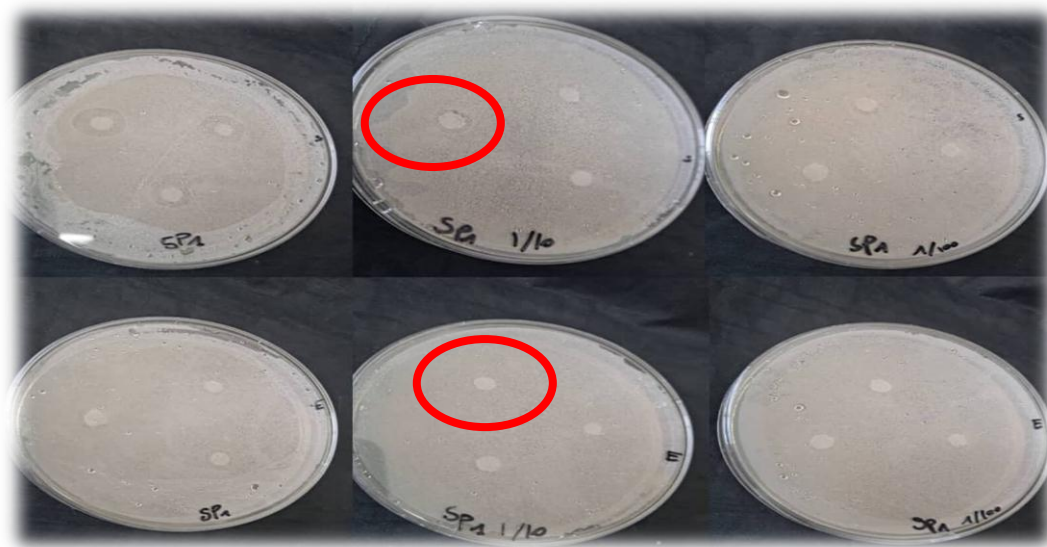


Figure 20: Zones d'inhibition d'*Evernia prunastri* contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*

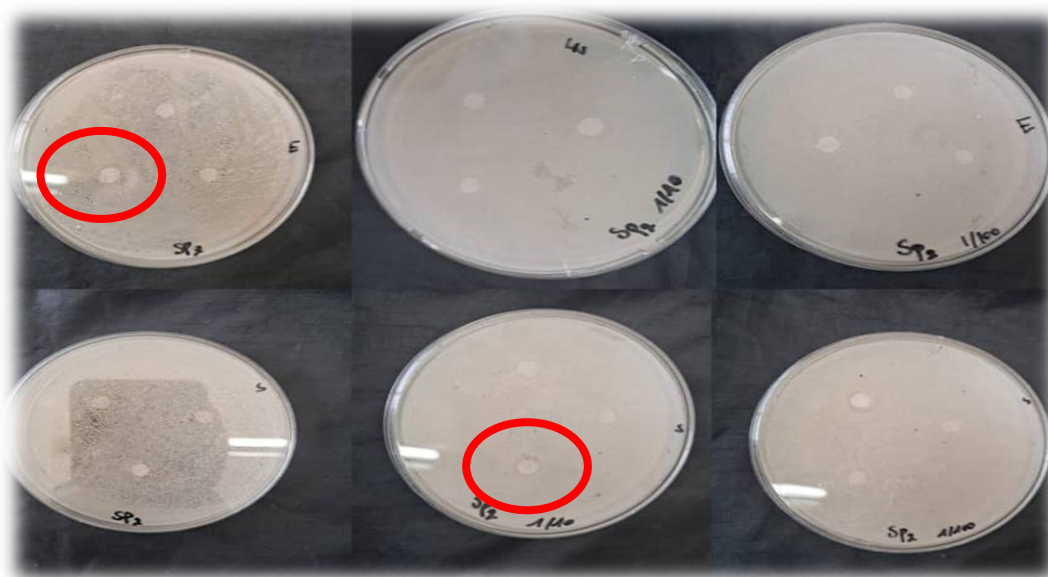


Figure 21: Zones d'inhibition de *Squamaria cartilaginea* contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*

Nos résultats indiquent que *S. aureus* est sensible à l'extrait méthanolique de *S. cartilaginea* à toutes les concentrations testées. Cet extrait a exercé une activité inhibitrice, avec des zones de 10 mm, 12 mm et 9 mm pour la solution mère et ses dilutions successives. Ces données confirment l'effet antibactérien de l'extrait, dont l'efficacité se maintient malgré la diminution progressive des concentrations.

Concernant *E. coli*, une sensibilité à l'extrait a également été observée. Toutefois, une diminution du diamètre de la zone d'inhibition (6 mm) à la dilution 1/100 suggère une résistance relative à cette concentration. À des concentrations plus élevées, les diamètres enregistrés (8 mm et 9 mm) révèlent une inhibition un peu plus marquée. Ces résultats traduisent une activité antibactérienne dose-dépendante, bien que modérée, de l'extrait méthanolique de *S. cartilaginea*.

Globalement, les zones d'inhibition observées (6 à 12 mm) indiquent une activité antibactérienne modérée, en particulier contre *S. aureus*. Ces observations sont en accord avec plusieurs études antérieures. Par exemple, **Ranković et al. (2007)** et **Cansaran et al. (2006)** ont rapporté des diamètres similaires (8 à 14 mm), renforçant la validité et la reproductibilité de nos résultats expérimentaux.

Bien que *S. cartilaginea* a été moins étudiée que *E. prunastri*, nos résultats rejoignent ceux d'**Odabaşoğlu et al. (2004)**, qui ont également mis en évidence une activité antibactérienne dans une fourchette comparable. Ces données soutiennent le potentiel thérapeutique de cette espèce lichénique, en tant que source possible de composer antimicrobiens naturels.

4.4.2. Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrice (CMI) et Bactéricide (CMB)

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques de *S. Cartilaginea* et *E. prunastri* en milieu liquide a été réalisée par la méthode de microdilution en microplaques (**Figure 22**). Les résultats des concentrations minimales inhibitrices (CMI), présentés dans le tableau ci-dessous, montrent que les deux extraits ont inhibé la croissance de *S. aureus* et *E. coli* à une concentration de 2.5 mg/ml.

Par ailleurs, l'évaluation de l'activité bactéricide a révélé une efficacité notable des deux extraits, avec une concentration minimale bactéricide (CMB) de 5 mg/ml contre les deux souches testées (**Figure 23 et 24**). Ces résultats suggèrent que les extraits possèdent non seulement une action inhibitrice, mais également bactéricide à des concentrations relativement faibles, ce qui renforce leur potentiel en tant qu'agents antimicrobiens naturels.

Tableau 09: Concentration minimales inhibitrices et bactéricides des extraits méthanoliques de *S. cartilaginea* et *E. prunastri* contre *S. aureus* et *E. coli*.

Agent antimicrobien		CMI (mg/ml)	CMB (mg/ml)	CMB/CMI	Interprétation
<i>S. aureus</i>	<i>E. prunastri</i>	2.5	5	2	Bactéricide
	<i>S. cartilaginea</i>	2.5	5	2	Bactéricide
<i>E. coli</i>	<i>E. prunastri</i>	2.5	5	2	Bactéricide
	<i>S. cartilaginea</i>	2.5	5	2	Bactéricide

Le rapport CMB/CMI, égal à 2 pour les deux extraits, est généralement interprété comme un indicateur d'activité bactéricide, selon les critères établis (effet bactéricide si $CMB/CMI \leq 4$; effet bactériostatique si $CMB/CMI \geq 4$). Ces données confirment l'efficacité significative des extraits méthanoliques de *S. cartilaginea* et *E. prunastri* contre les bactéries testées.

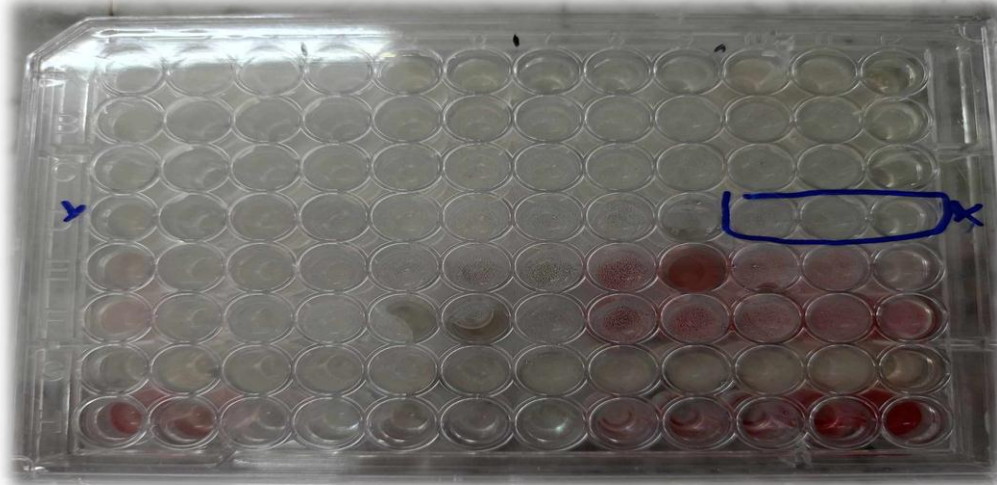


Figure 22: Concentration Minimale inhibitrice (CMI) d'*Evernia prunastri* et *Squamarina cartilaginea*

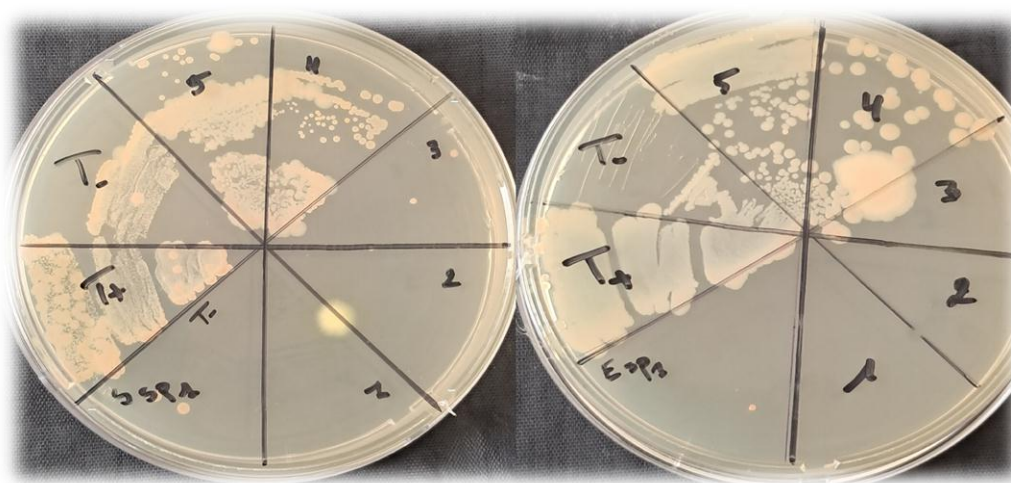


Figure 23: Concentration minimale bactéricide d'*Evernia prunastri* contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*

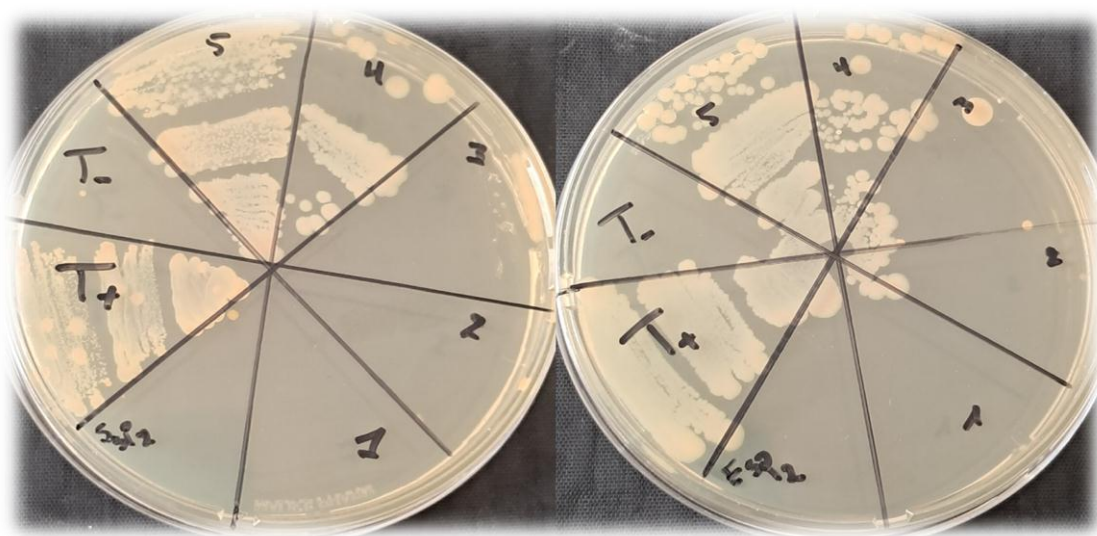


Figure 24: Concentration Minimale bactéricide de *Squamarina cartilaginea* contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*

Les résultats de cette étude ont montré que les extraits méthanoliques d'*E. Prunastri* et de *S. cartilaginea* présentent une activité antibactérienne modérée contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 2,5 mg/ml et une concentration minimale bactéricide (CMB) de 5 mg/ml pour les deux extraits.

Comparés à d'autres travaux, ces résultats indiquent une efficacité relativement plus faible. En effet, **Aoussar et al. (2020)** et **Mitrović et al. (2011)** ont rapporté des CMI plus basses pour *E. prunastri*, allant respectivement de 0,07 à 0,15 mg/ml et de 0,156 mg/ml selon les souches bactériennes testées. Concernant l'activité bactéricide, **Mitrović et al. (2011)** ont observé une CMB de 0,312 mg/ml contre *S. aureus*, tandis qu'**Aoussar et al. (2020)** ont obtenu des CMB variant entre 0,3 et 0,6 mg/ml, y compris contre *E. coli*.

Par ailleurs, certains extraits non méthanoliques, comme ceux au dichlorométhane ou à l'hexane, se sont révélés encore plus actifs. **Shcherbakova et al. (2021)** ont notamment rapporté des CMI de 4 µg/ml et 21 µg/ml contre *S. aureus* pour les extraits au dichlorométhane et à l'hexane respectivement. Ces écarts peuvent s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment la variabilité chimique des lichens selon leur origine géographique, la nature du solvant d'extraction, ou encore les conditions expérimentales (temps d'incubation, méthode de lecture, souche bactérienne utilisée). **Aslan et al. (2012)** ont également observé que l'extrait méthanolique d'*E. prunastri* présentait une activité antimicrobienne supérieure à celle de certains antibiotiques de référence contre différentes souches, dont *E. coli*.

Concernant *S. cartilaginea*, bien que les données disponibles soient plus rares, nos résultats (CMB = 5 mg/ml) s'inscrivent dans la lignée de ceux rapportés par **Yilmaz et al. (2004)**, qui ont observé une CMB allant jusqu'à 4 mg/ml contre *S. aureus*.

Enfin, la sensibilité des deux types de bactéries testées, Gram positif et Gram négatif, suggère que les extraits agiraient probablement sur des structures communes, telles que la paroi ou la membrane bactérienne. Cependant, des investigations complémentaires sont nécessaires pour élucider précisément les mécanismes d'action ainsi que les composés bioactifs responsables de cette activité.

Conclusion

Conclusion

Les lichens sont des organismes symbiotiques reconnus pour leur richesse en métabolites secondaires aux propriétés biologiques variées. Les extraits méthanoliques de *Squamarina cartilaginea* et *Evernia prunastri*, récoltés dans la wilaya de Tiaret, ont montré une activité antioxydante et antibactérienne prometteuse, mettant en valeur leur potentiel en tant que sources naturelles de composés bioactifs.

Cette étude s'inscrit dans ce contexte en explorant les caractéristiques phytochimiques et certaines activités biologiques, notamment les propriétés antioxydante et antibactérienne, des extraits méthanoliques de ces deux espèces.

À partir des analyses qualitatives et quantitatives, les extraits méthanoliques des deux espèces lichéniques *Evernia prunastri* et *Squamarina cartilaginea* se sont révélés riches en polyphénols, tanins et huiles essentielles. L'étude quantitative a mis en évidence une concentration plus élevée en composés phénoliques chez *E. prunastri* (13,12 mg EAG/g MS) comparativement à *S. cartilaginea* (6,19 mg EAG/g MS). Cette supériorité s'est également traduite dans la teneur en tanins condensés, avec une valeur de 132 mg EC/g MS pour *E. prunastri* contre 62,74 mg EC/g MS pour *S. cartilaginea*, suggérant un potentiel antioxydant plus élevé chez la première espèce, en lien avec sa richesse en métabolites secondaires.

Cependant, les résultats obtenus lors de l'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode DPPH ont révélé une tendance inverse. En effet, *S. cartilaginea* a démontré une efficacité antiradicalaire comparable à celle de l'acide ascorbique, utilisé comme standard, ce qui témoigne d'un fort pouvoir réducteur. À l'inverse, *E. prunastri* a présenté une IC₅₀ nettement plus élevée, traduisant une faible affinité pour le radical DPPH. Cette différence notable pourrait être attribuée à des variations dans la nature et la réactivité des composés phénoliques présents, ou encore à des facteurs écologiques influençant la composition chimique des deux espèces.

Par ailleurs, l'étude de l'activité antibactérienne a révélé que les deux extraits possèdent un effet inhibiteur et bactéricide contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Bien que cette activité reste modérée comparée à certains antibiotiques ou à des extraits obtenus par d'autres solvants, les deux espèces ont démontré une efficacité à des concentrations relativement faibles (CMI = 2,5 mg/ml ; CMB = 5 mg/ml), traduisant un effet dose-dépendant prometteur.

A l'essor de notre étude qui ne représente qu'une initiative dans le domaine de la valorisation de la flore végétale algérienne et la recherche des agents antibactériens et antioxydants, il serait donc intéressant de :

Conclusion

- Mener une étude plus approfondie sur les principes actifs de ces espèces et d'utiliser des méthodes plus modernes et sophistiquées permettant leur extraction, leur identification et leur quantification ;
- Elargir le spectre d'action de ces biomolécules en étudiant leur impacte antimicrobien vis-à-vis des souches microbiennes diverses ;
- Isoler et caractériser les composés actifs par des méthodes spécifiques telles que l'HPLC et GC/MS afin d'étudier leurs mécanismes d'action ;
- Valoriser l'utilisation de la flore lichénique dans l'industrie agro-alimentaire et pharmaceutique

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

- **Adamski, Z., Blythe, L. L., Milella, L., Bufo, S. A. (2020).** Biological activities of alkaloids: From toxicology to Pharmacology. *Toxins*, 12(4), 210.
- **Agbo, M.O., Uzor, P.F., Akazie-Nneji, U.N., Eze-Odurukwe, C.U., Ogbatue, U.B., Mbaaji, E.D. (2015).** Antioxidant, total phenolic and flavonoid content of selected Nigerian medicinal plants. *The Dhaka University journal of pharmaceutical Sciences*, 14(1), 35-41.
- **Agnes Flour. (2004).** Observation biologique des lichens. Ed : Moissac, France, 172 p.
- **Aït Abderrahim, L. (2018).** Etude de l'activité biologique (antioxydante, antimicrobienne et cicatrisante) de quelques préparations thérapeutiques à base de miel et de plantes médicinales. Thèse de doctorat en sciences biologiques, Université Ibn Khaldoun de Tiaret, Algérie .87p.
- **Aït Hammou, M. (2015).** Analyses taxonomique et écologique des lichens de la région de Tiaret. Thèse de doctorat, Université d'Oran 1. 326p.
- **Aït Hammou, M., Miara, M. D., Hadjadj-Aoul, S., Khedim, R., Safa Abdelkader. (2013).** Inventaire des lichens du chêne vert (*Quercus rotundifolia*) de la forêt communale Guezoul de Tiaret. *Revue Écologie-Environnement*, 1-14.
- **Akinmoladun, A. C., Olaleye, M. T., Farombi, E. O. (2014).** Cardiotoxicity and cardioprotective effects of African medicinal plants. In Elsevier eBooks (pp. 395–421).
- **Alpsoy, L., Orhan, F., Nardemir, G., Agar, G., Gulluce, M., & Aslan, A. (2013).** Antigenotoxic potencies of a lichen species, *Evernia prunastri*. *Toxicology and Industrial Health*, 31(2), 153–161.
- **Aoussar, N., Achmit, M., Es-Sadeqy, Y., Vasiljević, P., Rhallabi, N., Ait Mhand, R., ... & Mellouki, F. (2021).** Phytochemical constituents, antioxidant and antistaphylococcal activities of *Evernia prunastri* (L.) Ach., *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf. and *Ramalina farinacea* (L.) Ach. from Morocco. *Archives of Microbiology*, 203, 2887-2894.
- **Aslan, A., Gülçin, İ., Şahin, F., Beydemir, Ş., Küfrevioğlu, Ö. İ., Demirci, M. (2012).** Activités antioxydantes, antimicrobiennes et antiprolifératives de cinq espèces de lichens. *Revue internationale des sciences moléculaires*, 13(4), 4774–4790.

Références Bibliographiques

- **Asplund, J., & Wardle, D. A. (2016).** How lichens impact on terrestrial community and ecosystem properties. *Biological Reviews/Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 92(3), 1720–1738.
- **Ayoola, G.A., Coker, H. A. B., Adesegun, S.A., Adepoju-Bello, A. A., Obaweya, K., Ezennia E C. (2008).** Atangbayila T O.phytochemical Screening and Antioxidant Activities of some Selected Medicinal Plants Used for Malaria, Therapy in Southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7 (3), 1019-1024.
- **Basu, A., Rhone, M., Lyons, T.J. (2010).** Berries: emerging impact on cardiovascular health. *Nutrition Review*, 68 (3), 168-177.
- **Bebba, D., & Ben Derouiche, N. (2007).** Détection de la pollution atmosphérique par les hydrocarbures à l'aide d'un bioindicateur lichénique (*Xanthoria parietina*) et de quelques végétaux supérieurs dans la région de Hassi Messaoud. Mémoire de fin d'études, Université Kasdi Merbah, Ouargla, Algérie, 42 p.
- **Belhouala, k., Korkmaz,C., Taş,M., Selçuk,K., Mehmet,K., Duru,E., Benarba,B. (2024).** Eco-Friendly Species *Evernia prunastri* (L.) Ach.: Phenolic Profile, Antioxidant, Anti-inflammatory, and Anticancer Properties. 9, 45917-45732.
- **Bellenfant, S., Vallade, J., Beguinot, J., Sirugue, D., Lemmel C. et le Groupe Lichens de Bourgogne (GLIB). (2010).** Les lichens une symbiose exemplaire. *Rev. sci. Bourgogne-Nature*, 12, 30-45.
- **Belmokhtar, Z. (2015).** Identification et caractérisation des molécules du métabolisme secondaire de *Retama monosperma*. L Boiss, intérêt pharmaceutique. Thèse de Doctorat en science, Biotechnologie, Université Mohamed Boudiaf, M'Sila.307p.
- **Ben Abdallah, R., Frikha, D., Mallej, S., Sassi, S. 2019.** Evaluation of the antibacterial and antifungal activities of marine algae. *Journal Jimb Sfax*, 219(31), 38-44.
- **Benariba, N., Djaziri, R., Bellakhdar, W., Belkacem, N., Malek, F. (2013).** Polyphenols content, antioxidant and antimicrobial activities of *Artemisia herba-alba* extracts prepared by different solvents. *Industrial Crops and Products*, 46, 1–7.
- **Benayad, N. (2013).** Évaluation de l'activité insecticide et antibactérienne des plantes aromatiques et médicinales Marocaines. Extraction de métabolites secondaires des champignons endophytiques isolés de plantes Marocaines et activité anticancéreuse. Thèse de doctorat, Université Mohammed V - Agdal, Faculté des Sciences de Rabat. 186p.

Références Bibliographiques

- **Bitá, A. M., Bibalou, C. N., Moutoula Boula, F. E., Okeli, P. O., Attibayeba. (2022).** Evaluation of the Drying Quality of Two Types of Edible Mushrooms (*Termitomyces* and *Pleurotus*) and Their Impact on the Antioxidant Content. Open Journal of Applied Sciences, 12(02), 256-265.
- **Bolat, E., Saritaş, S., Duman, H., Eker, F., Akdaşçi, E., Karav, S., Witkowska, A. M. (2024).** Polyphenols: Secondary Metabolites with a Biological Impression. Nutrients, 16(15), 2550.
- **Boucher D., Millbank L., (2010).** Lichens. Neighborhood naturalist, Winter. Crvallis. 269 p.
- **Boullard, B. (1988).** Dictionnaire : Plantes & Champignons (2e éd.). ESTEM, Paris, 341 p.
- **Boullard, B. (1997).** Dictionnaire : Plantes & Champignons. 1re éd. ESTEM, Paris, 466 p.
- **Bouskraoui, M., Zouhair, S., Souraa, N., Benaouda, A., Zerouali, KH., Mahmoud, M. (2017).** Guide pratique des bactéries pathogènes, Société marocain d'infectiologie pédiatrique et de vaccinologie, 9,12-54.
- **Boustie J., (2013).** Les lichens et les cosmétiques. UFR. Rennes. 30p.
- **Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995).** Use of a free Radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - Food Science and Technology, 28(1), 25-30.
- **Bruneton, J. (1999),** Pharmacognosie. phytochimie. Plantes médicinales. 3e édition, Édition Médicales Internationales Cachan, France, 1120 p.
- **Cannell, R. J. P. (1998).** Natural products isolation. Springer Science and Business Media.
- **Cansaran Duman D., Halıcı M. G., (2012).** Antimicrobial activity of usnic acid on *Squammarina lentigera* lichen species, Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology, 69(3), 127-134.
- **Cansaran, D., Kahya, D., Yurdakulol, E., Atakol, O. (2006).** Identification and quantitation of usnic acid from the lichen *Usnea* species of Anatolia and antimicrobial activity. Phytochemistry, 61(11-12) :773-6.
- **Catesson, A.M., & Robert, D. (2000).** Biologie végétale. Volume 2 : Organisation végétative. Doin, Paris, 359 p.
- **Chabasset, D., Bouchara, J. Ph., Gentile, L., Brun, S., Cimon, B., Penn, P. (2002).** Formation biologie végétale In : les moisissures d'intérêt médical, 11-12.

Références Bibliographiques

- **Clauzade, G. (1991).** Bulletin d'information de l'Association Française de Lichénologie. Bull. Inform. Ass. Fr. Lichénologie, 1–48.
- **Clauzade, G., & Roux, C. (1987).** Généralités sur les lichens et leur détermination (Tome 18). Dignac, France, 214 p.
- **Clave, (2015).** Fiche technique bactériologie : *Escherichia coli*. Bactériologie 153, Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique.10p.
- **Cocchietto, M., Skert, N., Nimis, P.L., Sava, G. (2002).** A review on usnic acid, an interesting natural compound. Natur wissens chaften, 89,137-146.
- **Collombet, C. (1989).** Lichen d'islande et lichen pulmonaire. Thèse de doctorat en science pharmaceutique. Université Joseph Fourier Gourier Grenoble I. 120 p.
- **Cosme, F., Aires, A., Pinto, T., Oliveira, I., Vilela, A., Gonçalves, B. (2025).** A comprehensive review of bioactive tannins in foods and beverages: functional properties, health benefits, and sensory qualities. Molecules, 30(4), 800.
- **Coste, C. (2008).** Introduction à l'étude des lichens. 1-7.
- **Cotelle, N. (2001).** Role of Flavonoids in Oxidative Stress. Current Topics in Medicinal Chemistry, 1, 569-590.
- **Cowan, M. M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews, 12(4), 564–582.
- **Crozier, A., Jaganathb, I.B., Cliffordc, M.N. (2009).** Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. Natural Product Reports, 26, 1001-1034.
- **Culberson, C. F., Elix, J. A. (1989),** Lichens Substances. Methods in Plant Biochemistry, 1, 309-535.
- **Dai, J., Mumper, R.J. (2010).** Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxydant and Anticancer Propreties. Molecules ,15,7313-7352.
- **Dalpé, Y. (2019).** Les lichens, une manne méconnue. La corne d'abondance, 35(1), 9-1
- **Daoudi, A., Sabiri, M., Bammou, M., Zair, T., Ibijbijen, J., Nassiri, L. (2015).** Valorisation des extraits de trois espèces du genre *Urtica*: *Urtica urens* L., *Urtica membranacea* Poir et *Urtica pilulifera* L. Journal of Applied Biosciences, 87, 8094-8104.
- **Dayan, F.E., Romagini, J.G. (2001).** Lichens as a potential source of pesticides. Pestic Outlook, 12:229–232.
- **Dayan, F.E., Romagini, J.G. (2002)** Structural diversity of lichen metabolites and their potential for use. In: Upadhyaya R (ed) Advances in microbial toxin research and

Références Bibliographiques

- its biotechnological Exploration. Kluwer Academic/Plenum Publisher, New York, p 151.
- **De Sousa, D. P., Damasceno, R. O. S., Amorati, R., Elshabrawy, H. A., De Castro, R. D., Bezerra, D. P., Nunes, V. R. V., Gomes, R. C., & Lima, T. C. (2023).** Essential oils: chemistry and pharmacological activities. *Biomolecules*, 13(7), 1144.
 - **Değirmenci, B. C., Kocakaya, M., İlğün, S., Karatoprak, G. Ş., Kocakaya, Z., Ceylan, A. (2024).** Investigation of Biological Activity of *Squamarina cartilaginea* (With.) P. James Species Distributed in Türkiye. *Cumhuriyet Science Journal*, 45(3), 478–485.
 - **Deruelle S., 1978.** Les lichens et la pollution atmosphérique. *Bull. Ecol.*, 9 (2), 87 - 128.
 - **Dewanto, V., Wu, X., Adom, K. K., Liu, R. H. (2002).** Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(10), 3010–3014.
 - **Diniz, T. C., Silva, J. C., De Lima-Saraiva, S. R. G., De Almeida Ribeiro, F. P. R., Pacheco, A. G. M., De Freitas, R. M., Quintans-Júnior, L. J., De Souza Siqueira Quintans, J., Mendes, R. L., & Da Silva Almeida, J. R. G. (2015).** The role of flavonoids on oxidative stress in epilepsy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1–9.
 - **Djahra, A. (2014).** Etude photochimique et activité antimicrobienne, antioxydant, antihépatotoxique du marrube ou *Marrubium vulgare*. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie.114p.
 - **Djibo, A.K., Samaté, A.D., Nacro, M. (2004).** Composition chimique de l'huile essentielle de *Ocimum americanum* Linn., syn. *O. canum* Sims du Burkina Faso. *Comptes Rendus Chimie*, 7, 1033-1037.
 - **Doğan, N., Doğan, C., Kocakaya, M. (2022).** Optimization Extraction of *Cladonia foliacea* (Huds.) Willd: Antioxidant Activity and Inhibition of the Key Enzymes Linked to Type II Diabetes,25(4), 828-837.
 - **Donkin, R.A.1981.** The Manna Lichen : *Lecanora esculenta*. *Anthropos*, 76, 562- 576.
 - **Durrieu, G. (1993).** Écologie des champignons. Masson, Paris, 197 p.
 - **-EL-Haoud, H., Boufellous, M., Berrani, A. (2018).** Sscreening phytochimique d'une plante medicinale: *Mentha spicata* L. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, 226-233.

Références Bibliographiques

- **Elix, J. A., & Stocker-Wörgötter, E. (2008).** Biochemistry and secondary metabolites. In Cambridge University Press eBooks, pp. 104–133.
- **Ellatifi, O. (2011).** Place des fluoroquinolones dans le traitement des infections urinaires dans les établissements de santé lorrains. Thèse de doctorat, UHP – Université Henri Poincaré. 100p.
- **Engler, R., Lacoux, D. (2009).** Le thalle lichénique. Bull. Ass. Fr. Lichénologie, 34(1), 21–24.
- **Esteban, I., (2012).** Liqueenes usados en medicina tradicional. Bol Soc Micol Madrid, 36,163-174
- **Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. (2008).** Phenolics composition of *Cynara cardunculus* L. Organs, and their biological activities, C.R. Biologies, 331, 372-379.
- **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique, 108-115.
- **Fazio, A. T., Adler, M. T., Bertoni, M. D., Sepulveda, C. S., Damonte, E. B., Maier, M. S. (2007).** Lichen Secondary Metabolites from the Cultured Lichen Mycobionts of *Teloschistes chrysophthalmus* and *Ramalina celastri* and their Antiviral Activities. PubMed, 62(7-8),
- **Felhi, S., Daoud, A., Hajlaoui, H., Mnafigui, K., Gharsallah, N., Kadri, A. (2017).** Solvent extraction effects on phytochemical constituent's profiles, antioxidant and antimicrobial activities and functional group analysis of *Ecballium elaterium* seeds and peels fruits. Food Science and Technology, 37(3), 483–492.
- **Flagey, C. (1896).** Catalogue des lichens d'Algérie. In Battandier, J. & Trabut, L., Flore de l'Algérie, 2(1), Jordan, Alger, 139 p.
- **Fontanay, S., Mougenot, M.E., Duval, R.E. (2015).** Évaluation des activités antibactériennes des huiles essentielles et/ou de leurs composants majoritaires. Hegel, 5, 109–118.
- **Foster, T.J. (2002).** *Staphylococcus aureus*. Microbiologie médicale moléculaire, 2, 839-888.
- **Fu, J., Wu, Z., & Zhang, L. (2019).** Clinical applications of the naturally occurring or synthetic glycosylated low molecular weight drugs. Progress in Molecular Biology and Translational Science, 487–522.

Références Bibliographiques

- **Ganière, J.P., Mangion, C., Péridy, M. (2004).** Détermination des concentrations minimales inhibitrices et bactéricides de la cefquinome, la marbofloxacin, la tylosine et la spiramycine en solution dans du lait vis-à-vis de bactéries isolées de mammites bovines. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 8–9, 411–416.
- **Gardes, A. M., Bonnefont, R.D., Abedinzadeh, Z., Jore, D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ?. *L'actualité chimique*, 270, 91-96.
- **Gavanji, S., Mohammadi, E., Larki, B., Bakhtari, A., (2014).** Antimicrobial and cytotoxic evaluation of some herbal essential oils in comparison with common antibiotics in bioassay condition. *Integrative Medicine Research*, 3,142–152.
- **Gayathri D., Swamy C.T. (2012).** Lichens: A novel and potential source as antimicrobials for human use. *Journal Of Phytology*, 4(1), 38-43.
- **Genevès, L. (1990).** Biologie végétale: Thallophytes et microorganismes. Dunod, Paris, 91 p.
- **George B. 1999.** Understanding Lichens. Ed: Richmond.92 p.
- **Ghedira, K. (2005).** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 4, 162-169.
- **Giusti, M.M., Jing, P. (2007).** Natural pigments of berries: functionality and application. In Zhao,Y. *Berry fruit: Value-added products for health promotion*, CRC Press :Taylor and Francis Group, LLC, 105-146.
- **Gonza'lez-Tejero, M.R., Molero-Mesa, J., Casares-Porcel, M., Martinez Lirrola, M.J. (1995).** New contributions to the ethnopharmacology of Spain. *J Ethnopharmacol*, 45,157–165.
- **Goujon, M. (2004).** Lichens et biosurveillance de la qualité de l'air. Agence Régionale de l'Environnement de Haute-Normandie, 4 p.
- **Halliwell B., Gutteridge J.M. (1989).** Free radicals in biology and medicine, 2nd edition. Oxford: clarendon press,944p.
- **Hanssanpour, S., Maherisis, N., Eshrathah, B., Baghbani, N.F. (2011).** Plants and secondary metabolites (Tannins): A Review. *International Journal of Forest, Soil and Erosion*, 1(1), 47-53.
- **He, J., Giusti, M.M. (2010).** Anthocyanins: Natural Colorants with Health-Promoting Properties. *The Annual Review of Food Science and Technology*, 1,163-187.
- **Hopkins W.G. (2003).** Molécules et métabolisme. In : *Physiologie Végétale*. 2eme Édition. DeBoeck, Paris. 514 p.

Références Bibliographiques

- **Huneck, S. (1999).** The significance of lichens and their metabolites. *Naturwissenschaften*, 86, 559-570.
- **Huneck, S., Yoshimura, I., Huneck, S., Yoshimura, I. (1996).** Identification of lichen substances. Springer Berlin Heidelberg, 11-123.
- **Huneck, S. (2001).** New Results on the Chemistry of Lichen Substances. *Fortschr Chem Org Naturst*, 81,1-276.
- **Iserin, P. (2001).** Encyclopédies des plantes médicinales : identification, préparations, soins. Paris, Larousse. 335 p.
- **Jaber, Ali. (2017).** Matrices MALDI bithiophéniques spécifiques aux alcaloïdes : étude des mécanismes fondamentaux et applications. Thèse de doctorat en Chimie Analytique, Université d'Angers, Liban.289p.
- **Jean, B. (2009).** Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales. 4 édition, Lavoisier. 1283p.
- **Jean, J.M. (1996).** Les composés phénoliques des végétaux : quelles perspectives à la fin du XXème siècle ? *Acta bot. Gallica*, 143(6) ,473-479.
- **Joulain, D., Tabacchi, R. (2009).** Lichen extracts as raw materials in perfumery. Part 1: Oakmoss, *Flavour and Fragrance Journal*, 24 (2), 49 - 61.
- **Jovanovic, S.V., Steenken, S., Tosic, M., Marjanovic, B., Simic, M. G. (1994).** Flavonoïdes comme antioxydants. *Journal de l'American Chemical Society*, 116(11), 4846-4851.
- **Kadri, M. (2021).** Preliminary Phytochemical Screening, Quantification of phenolic compounds, of Plant Extract from *Chenopodium quinoa*. *Algerian Journal of Biosciences*, 2(1), 042-045.
- **Kamal, T., Ahmad, M., Raji,A.A., Muayad, S., Muhammad, N.O. (2012).** Preliminary phytochemical screening test of *Garcinia griffithii* Plant. *Innova Ciencia*, 4(4), 68-74.
- **Kaper, J, B., Nataro, J, P., Mobley, H, L, T. (2004).** Pathogenic *Escherichia Coli*. *PubMed*, 2(2), 123-40.
- **Karabulut, G., Ozturk, S. (2015).** Antifungal Activity of *Evernia Prunastri*, *Parmelia sulcata*, *Pseudevernia Furfuracea* Var. *Furfuracea*. *Pakistan Journal of Botany*, 47 (4), 1575 - 1579.
- **Karthikai Devi, G., Anantharaman, P., Kathiresan, K., & Balasubaramanian, T. (2011).** Antimicrobial activities of the lichen *Rocella belangeriana* (Awasthi) from

Références Bibliographiques

- mangroves of Gulf of Mannar. Indian Journal of Geo and Marine Sciences, 40, 449–453.
- **Kolly-Ray, M., Magnin-Gonze, J. 2016.** Mousses, lichens et hépatiques du Bois de Versoix. Bulletin du Cercle vaudois de botanique, 45, 7-14.
 - **Konan, K. L., Yapo, G. R., Kouadio, K. E., Djaman, A. J., Guédé-Guina, F. (2015).** Étude de l'activité antibactérienne et antioxydante des extraits de lichens du genre *Parmotrema*. Journal of Applied Biosciences, 85, 7859–7867.
 - **Kosanic, M., Manojlovic, N., Jankovic, S., Stanojkovic, T., Rankovic, B. (2013).** *Evernia prunastri* and *Pseudoevernia furfuraceae* lichens and their major metabolites as antioxidant, antimicrobial and anticancer agents. PubMed, 53,112-118.
 - **Kosanic, M., Rankovic, B., Stanojkovic, T., Vasiljevic, P., Manojlovic, N. 2014.** Biological activities and chemical composition of lichens from Serbia. EXCLI Journal. 13,1226 - 1238.
 - **Kouadio, N. J., Guessennd, N. K., Koné, M.W., Moussa, B., Koffi Y. M, Guédé, K. B., YaoK., Bakayoko, A., Tra Bi, F. H., Dosso, M., (2015).** Evaluation de l'activité des feuilles de *Mallotus oppositifolius* (Geisel.) Müll.-Arg (Euphorbiaceae) sur des bactéries multirésistantes et criblage phytochimique. Int. J. Biol.Chem. Sci, 9 (3), 1252-1262.
 - **Kout, M., et Chihel, A. (2018).** Activité antibactérienne et caractéristiques phytochimiques des lichens issus de l'Est algérien. Mémoire de Master, Université Frères Mentouri.62p.
 - **Lackovicova, A., Guttova, A., Bakor, M., Pisut, I. (2013).** Response of *Evernia prunastri* to urban environmental conditions in Central Europe after the decrease of air pollution. The Lichenologist, 45 (01), 89-100.
 - **Lagnika, L. (2005).** Étude phytochimique et activité biologique des substances naturelles isolées de plantes béninoises. Thèse de doctorat, Université de Lounis Pasteur, Université d'Abomey-Calavi, Bénin.280p.
 - **Lakhdar, L., Farah, A., Lahlou, I., Rida, S., Bouziane, A., Ennibi, O. (2017).** Antibacterial effectiveness of selected moroccan essential oils against the highly virulent jp2 clone of aggregatibacter actinomycet emcomitans. International journal of pharmacy and pharmaceutical Sciences, 9(2), 47.
 - **Lawrey, J. D. (1986).** Biological role of lichen substances. The Bryologist, 89(2), 111–122.

Références Bibliographiques

- **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.
- **Leclerc, H., Gaillard, J.L., Simonet, M. (1995).** Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Paris, Doin. 535p.
- **Lee, A. T., Proenic, C., Ferreira, A. R., Serralheiro, M. L., Nogueir, J. M., Araujo, M. E. (2003).** Antioxidant and antiacetyl cholinesterase activities of five plants used as portuguese food spices. Food Chemistry, 103,778-786.
- **Lenton JR, Goad LJ, Goodwin TW. (1973)** Sterols of *Xanthoria parietina* evidence for 2 sterol pools and the identification of a novel 28 carbon triene erosta-5-8, 22-trien-3- beta -ol. Phytochemistry, 12, 1135-1140.
- **Loppi, S., Frati, L. (2006).** Lichen diversity and lichen transplants as monitors of air pollution in a rural area of central Italy. Environmental Monitoring and Assessment, 114, 361- 375p.
- **Loza-Mejía, M. A., Salazar, J. R. (2015).** Sterols and triterpenoids as potential anti-inflammatories: Molecular docking studies for binding to some enzymes involved in inflammatory pathways. Journal of Molecular Graphics and Modelling, 62, 18-25.
- **Lukić, M., Lukić, I., Moslavac, T. (2021).** Sterols and Triterpene Diols in Virgin Olive Oil: A Comprehensive Review on Their Properties and Significance, with a Special Emphasis on the Influence of Variety and Ripening Degree. Horticulturae, 7(11), 493.
- **Lüttge U., Kluge M., Bauer G. (2002).** Botanique. 3ème Edition. Technique et Documentation, Lavoisier. Paris. 600 p.
- **Makkar, H. (2003).** Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. Small Ruminant Research, 49(3), 241-256.
- **Mallet M., Tomasi S., Bousarghin L., (2017).** Antibacterial activities of natural lichen compounds against *Streptococcus gordonii* and *Porphyromonas gingivalis*, Fitoterapia, 121, 164- 169.
- **Manojlović, N. T., Solujić, S., Sukdolak, S., Krstić, L. (2012).** Antioxidant properties and antimicrobial activity of the lichen *Hypogymnia physodes* L. Molecules, 17(10), 11829-11841.
- **Manojlović, N.T., Solujić, S., Sukdolak, S., Milošev, M. (2005).** Antifungal activity of *Rubia tinctorum*, *Rhamnus frangula* and *Caloplaca cerina*. Fitoterapia, 76(2), 244-246.

Références Bibliographiques

- **Marouf, A., Reynaud J., (2007).** La botanique .de A a Z. Dunod. Paris. 352 p.
- **Martellos, S., Conti, M., Nimis, PL. (2023).** Agrégation des données sur les lichens italiens dans ITALIC 7.0. Journal of Fungi, 9(5) ,556.
- **Mendili M., Bannour M., Araújo M. E. M., Seaward M. R., Khadhri A. (2021).** Lichenochemical screening and antioxidant capacity of four Tunisian lichen species, Chemistry biodiversity, 18(2), e2000735.
- **Merabti, K., Rebbas, K., Beddia, A., Ait Hammou, M., Boutabia, L. (2018).** Inventaire des lichens de la région Est d’Alger et leurs utilisations comme bioindicateurs de la pollution atmosphérique. Revue Écologie-Environnement, (14). <http://fsnv.univ-tiaret.dz/index.php/13-la-revue/10-la-revue>.
- **Michel T., Destandau E., Le Floch G., Lucchesi M.E., Elfakira C., (2012).** Antimicrobial, antioxidant and phytochemical investigations of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) leaf, stem, root and seed, Food Chemistry, 131(3), 754 760.
- **Mitrović, T., Stamenković, S., Cvetković. V., Nikolić, M., Tošić, S., Stojičić. D. (2011).** Lichens as sources of versatile bioactive compounds. Biologica nyssana, 2(1), 1-6.
- **Mitrovic, T., Stamenkovic, V., Tosic, S., Stankovic, M., Radojevic, I., Stefanovic, O., Comic, L., Curcic, M., Markovic, S. (2011).** Antioxidant, Antimicrobial and Antiproliferative Activities of five Lichen Species. International Journal of Molecular Sciences, 12, 5428 5448.
- **Molnar, K; Farkas, E. (2010).** Current results on biological activities of lichen secondary metabolites: A review. Z. Naturforsch. C, 65, 157–173.
- **Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical DPPH for estimating antioxidant activity. Songklanakarin Journal of Science and Technology, 26(2), 211–219.
- **Moroh, J.L.A., Bahi, C., Dje, K., Loukou, Y.G., Guede-Guina, F. (2008).** Étude de l’activité antibactérienne de l’extrait acétatique (EAC) de *Morinda morindoides* (Baker) *Redheat Milne (rubiaceae)* sur la croissance in-vitro des souches d’*Escherichia coli*. B. Soc. Royale des Sc. de Liège, 77 (4), 44 -61.
- **Morot-Gaudry J.F., Prat R. (2012).** Biologie Végétale : Nutrition et métabolisme. 2ème Edition, Dunod. Paris. 224 p.
- **Mueed, A., Shibli, S., Al-Quwaie, D. A., Ashkan, M. F., Alharbi, M., Alanazi, H., El-Saadony, M. T. (2023).** Extraction, characterization of polyphenols from certain

Références Bibliographiques

- medicinal plants and evaluation of their antioxidant, antitumor, antidiabetic, antimicrobial properties, and potential use in human nutrition. *Frontiers in Nutrition*, 10, 1125106.
- **Muggia, L., Schmitt, I., Grube, M. (2009).** Lichens as treasure chests of natural products. *SIM News*, 59, 85–97.
 - **Munzi, S., Pisani, T., Renzi, M., Loppi, S., Paoli, L. (2013).** Effect of nitrogen supply on the C/N balance in the lichen *Evernia prunastri* (L.) Ach. *Turkish Journal of Biology*, 37, 165 -170.
 - **Nhan, T.X., Gillet, Y., Vandenesch, F. (2012).** Diagnostic et traitements des infections toxiques à *Staphylococcus aureus*. *Journal Des Anti-Infectieux*, 14(3), 117-126.
 - **Nicklin, J., Graeme-cook, K., Paget, T., Killington, R. (2000).** L'essentiel en Microbiologie. Paris, Berti. 365p.
 - **Nicolas, M., & Daniel, C. (1998).** Activités technologiques en microbiologie- Techniques de base et méthodologie. Editeurs CRDP D'Aquitaine-Bordeaux. 152p.
 - **Noël, A. (2017).** Obtention de composés azotés d'origine naturelle. Étude de biotransformation par des bactéries associées aux lichens. Thèse de doctorat, Université Rennes 1, 325 p.
 - **Odabaşoğlu, F., Aslan, A., Cakir, A., Suleyman, H., Karagoz, Y., Halici, M., Bayir, Y. (2004).** Antioxidant activity, reducing power and total phenolic content of some lichen species. *Fitoterapia*, 76(2), 216-219.
 - **Olafsdottir, E.S., Ingolfssdottir, K. (2001).** Polysaccharides from lichens: structural characteristics and biological activity. *Planta Medica*, 67, 199-208.
 - **Ouzilleau, J., Payette, S. (1975).** Croissance de quelques lichens à caribou du genre *Cladonia* (sous-genre *Cladina*) en milieu subarctique, Nouveau-Québec. Éditeur non identifié.
 - **Ozenda P., Clauzad G., (1970).** Les lichens : Etude biologique et flore illustrée. Masson, Paris. 800p.
 - **Ozenda, P. (2000).** Les végétaux : Organisation et diversité biologique. 2e éd. Dunod, 520p.
 - **Parekh, J., Chanda, S. (2007)** "In vitro Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of Some Indian Medicinal Plants. *Turkish Journal of Biology*, 31, (1), 53-58.

Références Bibliographiques

- **Parrot, D. (2014).** Étude de quatre lichens marins, maritimes ou terrestres et des bactéries associées : Évaluation de la diversité bactérienne et recherche de métabolites d'intérêt. Thèse de doctorat, Université Karl-Franzens / INSA Rennes. 303p.
- **Patel, O. P., Beteck, R. M., Legoabe, L. J. (2020).** Antimalarial application of quinones: A recent update. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 210, 113084.
- **Pelouze, J., fremy, E. (1854).** Picroérythrine. In : *Traité de chimie générale, analytique, industrielle et agricole*. Tome 6.3eme édition. Paris : Victor Masson Et Fils. Pp : 193-307.
- **Pérez-Pérez, E., Vit, P., Huq, F. (2013).** Flavonoids and polyphenols in studies of honey antioxidant activity. *International Journal of Medicinal Plant and Alternative Medicine*, 1(4), 63-72.
- **Petosa, C., Govin, J., Mietton, F. (2018).** Champignons pathogènes. Un nouvel espoir de traitement des infections généralisées, 34, 123(1).
- **Pierre, A. (2016).** Analyses de lichens par spectrométrie de masse : Déréplication et histolocalisation. Thèse de doctorat, Université de Rennes 1, 358 p.
- **Podterob, A.P. (2008).** Chemical composition of lichen and their medical application. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 42 (10), 582 -588.
- **Poelt, J. (1958).** Die lobaten Arten der_Flechtengattung Lecanora Ach. Sensus ampl. In der Holarktis. *Biodiversity Heritage library*, 2, 411–589.
- **Popovici, C., Saykova, I., Tylkowski, B. (2009).** *Revue de génie industriel*, 4, 25-39.
- **Prakash, V., Saxena, S., Gupta, S., Saxena, A.K., Yadav, R., Singh, S.K. (2015).** Preliminary phytochemical screening and biological activities of *Adina cardifolia*. *J Microb Bio chem Technol*, 7, 33-38.
- **Ramaut, J.L. (1965).** Réflexions sur la valeur chimiotaxonomique des substances licheniques a basses concentrations : le cas de l'acide usnique chez *Evernia prunastri* (L.) ACH. *Phytochemistry*, 4(1), 199- 202.
- **Ranković, B. (2015).** Lichens as a potential source of bioactive Secondary Metabolites *In*: Ranković B., editor *Lichen Secondary Metabolites Bioactive Properties and Pharmaceutical Potential*. Springer International Publishing Switzerland; 2015. p. 1-26.
- **Ranković, B., Mišić, M., Sukdolak, S. (2007).** Antimicrobial activity of extracts of the lichens *Cladonia furcata*, *Parmelia caperata* and *Lecanora atra*. *Biologia*, 64(4), 143-8.

Références Bibliographiques

- **Rashmi, S., Rajkumar, H. G. (2014).** Preliminary phytochemical screening of different solvent extracts of lichens from Kodagu district, Karnataka. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3(4), 209-212.
- **Raven B.H., Evert R.F., Eichhorn S.E., (2007).** *Biologie Végétale*. 2ème Edition. De Boeck, Paris. 733 p.
- **Richter G. (1993).** *Métabolisme des végétaux : Physiologie et biochimie*. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes. 526 p.
- **Romain, D. (2015).** Étude de l'homéostasie des micronutriments de la fixation d'azote au sein de la symbiose lichénique en forêt boréale. Thèse de doctorat, Université de Sherbrooke. 234 p.
- **Rotimi, V.O., Laughon, B.E., Bartlett, J.G., Mosadomi, H.A. (1988).** Activities of nigerian chewing stick extracts against bacteroides gingivalis and bacteroides mmelaninogenic. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 32(4), 598-600.
- **Sarni-Manchado P., Veronique C. (2006).** *Les polyphénols en agroalimentaires*. Collection sciences et techniques agroalimentaires, édition TEC et DOC, Paris, France. 398p.
- **Sati S.C., Joshi S. (2011).** Antibacterial activity of the Himalayan lichen *Parmotrema nilgherrense* Extracts. *British Microbiology Research Journal*, 1(2), 26-32.
- **Schmeda-Hirschmann, G., Tapia, A., Lima, B., Pertino, M., Sortino, M., Zacchino, S., Rojas de Arias, A., and Feresin, G.E. (2008).** A new antifungal and antiprotozoal depside from the Andean lichen *Protousnea poeppigii*. *Phytother. Res.*, 22, 349-355.
- **Senol, Z.M., Gul, U.D., Simsek, S. (2019).** Assessment Of Pb²⁺ Removal capacity Of Lichen (*Evernia prunastrie*): Application of Absorption Kinetic, Isotherm Models, and Thermodynamics. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-12.
- **Sérusiaux, E., Diederich, P., & Lambinon, J. (2004).** *Les macrolichens de Belgique, du Luxembourg et du Nord de la France : Clés de détermination*. Musée National d'Histoire Naturelle, Luxembourg, 192 p.
- **Sgcherbakova, A., Strömstedt, A., Göransson, U., O Gnezdilo. (2021).** Antimicrobial activity of *Evernia prunastri* extracts and its isolates. *Planta Medica*, 87 (15).
- **Shakil, S., Khan, R., Zarrilli, R., Khan, A. U. (2015).** Aminoglycosides versus bacteria – a description of the action, resistance mechanism, and nosocomial battleground. *Journal of Biomedical Science*, 22, 1–10.

Références Bibliographiques

- **Sharma, K., Kaur, R., Kumar, S., Saini, R. K., Sharma, S., Pawde, S. V., Kumar, V. (2023).** Saponins: A concise review on food related aspects, applications and health implications. *Food Chemistry Advances*, 2, 100191.
- **Shen, L., Luo, H., Fan, L., Tian, X., Tang, A., Wu, X., Dong, K., Su, Z. (2023).** Potential immunoregulatory mechanism of plant saponins: a review. *Molecules*, 29(1), 113.
- **Shukla, V., Joshi, G. P., & Rawat, M. S. M. (2010).** Lichens as a potential natural source of bioactive compounds: A review. *Phytochemistry Reviews*, 9(3), 303–314.
- **Sies, H. (2020).** Oxidative Stress: Concept and Some Practical Aspects. *Antioxidants*, 9(9), 852.
- **Silar P.H., Malagnac F. (2013).** Les Champignons : Redécomuverts. Belin. Paris. 136p.
- **Solak, S. (2016).** Fatihormanlarının (Şişli, İstanbul) likenleri. Doctoral dissertation, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. 74p.
- **Stojanovic, I., Radulovic, N., Mitrovic, T., Stamenkovic, S., & Stojanovic, G. (2011).** Volatile constituents of selected Parmeliaceae lichens. *Journal of the Serbian Chemical Society*. 76(7), 987–994.
- **Sushama Raj, R.V. (2017).** Preliminary phytochemical screening of *Lantana camara*, L., a major invasive species of Kerala, using different solvents. *Annals of Plant Sciences*, 6(11), 1794-1798.
- **Sweidan A., Chollet-Krugler M., Sauvager A., Van De Weghe P., Chokr A., Bonnaure**
- **Taş, İ., Yıldırım, A. B., Özkan, E., Ozyiğitoglu, G. C., Yavuz, M. Z., Turker, A. U. (2019).** Biological evaluation and phytochemical profiling of some lichen species. *Acta Alimentaria*, 48(4), 457–465.
- **Tefiani, I. (2015).** Contribution à l'étude phytochimique et à l'effet antioxydant des extraits d'algue verte : *Ulva linza*. Mémoire de Master, Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen. 83p.
- **Tievant, P. (2001).** Guide des lichens : 350 espèces de lichens d'Europe. Delachaux et Niestlé, Paris, 304 p.
- **Tlili, M.L., (2016).** Contribution à la caractérisation physico-chimique et biologique des extraits de *Pergularia tomentosa* issue de quatre sites sahariens différents (Sahara septentrional). Thèse de magister en biologie. Université Kasdi Merbah, Ouargla. 156p.

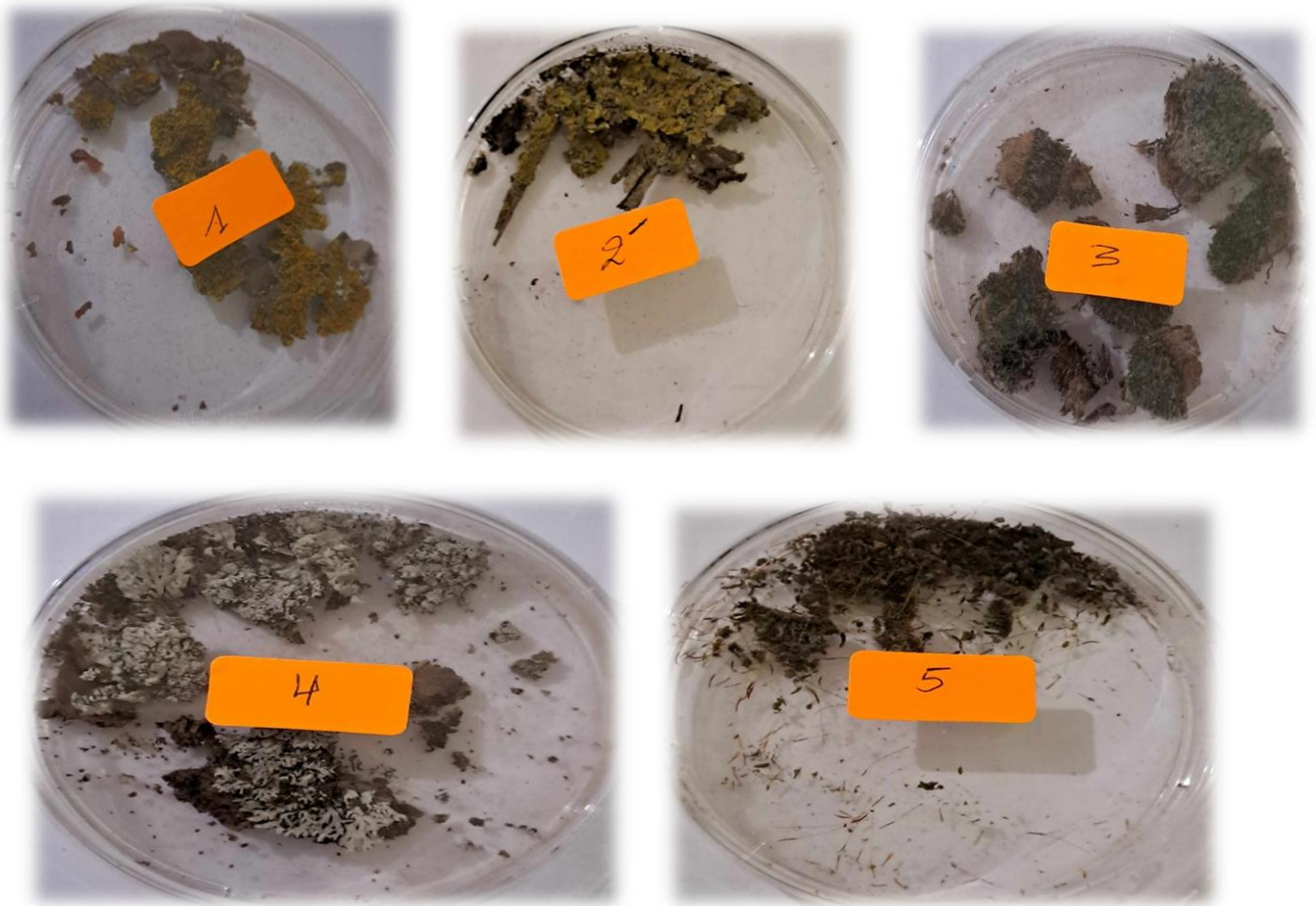
Références Bibliographiques

- **Touré, D., Bédi, G., Kouadio, P., (2014).** Effect of geographical location and antibacterial activities of essential oils from Ivoirian *Chromolaena odorata*. King and Robinson (Asteraceae). Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy, 9, 428-437.
- **Van Haluwyn, C., Lerond, M. (1993).** Guide des lichens. Paris : Lechevalier, 344 p.
- **Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L., Oomah, B.D. (1998).** Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46, 4113-4117.
- **Verma, N., & Behera, B. C. (2014).** Future directions in the study of pharmaceutical potential of lichens. In Springer eBooks. pp. 179–202.
- **Vust, M., Clerc, P., Habashi, C., & Mermilliod, J.C. (2015).** Liste rouge des lichens du Canton de Genève. Conservatoire & Jardin Botaniques de la Ville de Genève, 159 p.
- **Waksmundzka-Hajnos, M., Sherma, J. (2011).** Application of HPLC in the Analysis of phenols, phenolic acid and tannins In : High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical Analysis. France: CRC press. Pp : 477-478.
- **Wang, L.S., Narui, T., Harada, H., Chicita, F., Culberson, C.F., Culberson, W.L. 2001.** Ethnic uses of lichens in Yunnan, China. Bryologist, 104 (3), 345-349.
- **Wichtl M., Anton R. (2009).** Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition LAVOISIR, Paris. Pp : 38–41.
- **Yam, M. F., Ang, L. F., Ameer, O. Z., Salman, I. M., Aziz, H. A., Asmawi, M. Z. (2009).** Anti-inflammatory and Analgesic Effects of *Elephantopus tomentosus* Ethanolic Extract. Journal of Acupuncture and Meridian Studies, 2(4), 280–287.
- **Yılmaz, M., Türk, A. Ö., Tay, T. et Kıvanç, M. (2004).** Activité antimicrobienne d'extraits de certaines espèces de lichens récoltées en Turquie. Journal of Biology, 28, 43–47.
- **Young, I.S., Woodside, J.V. (2001).** Antioxidants in health and disease. J Clin Pathol, 54, 176-186.
- **Youssfi, C. E., Dadou, S., Loukili, E. H., Hammoudani, Y. E., Soujaa, H., Rejdali, M., Mohammed, H. Z., Mourabit, N., Aarab, S. (2024).** Biological activities of essential oils: A mini-review. BIO Web of Conferences, 109, 01031.
- **Zambare, V.P., Christopher, L.P. (2012).** Biopharmaceutical potential of lichens. Pharmaceutical Biology, 50(6), 778-798.

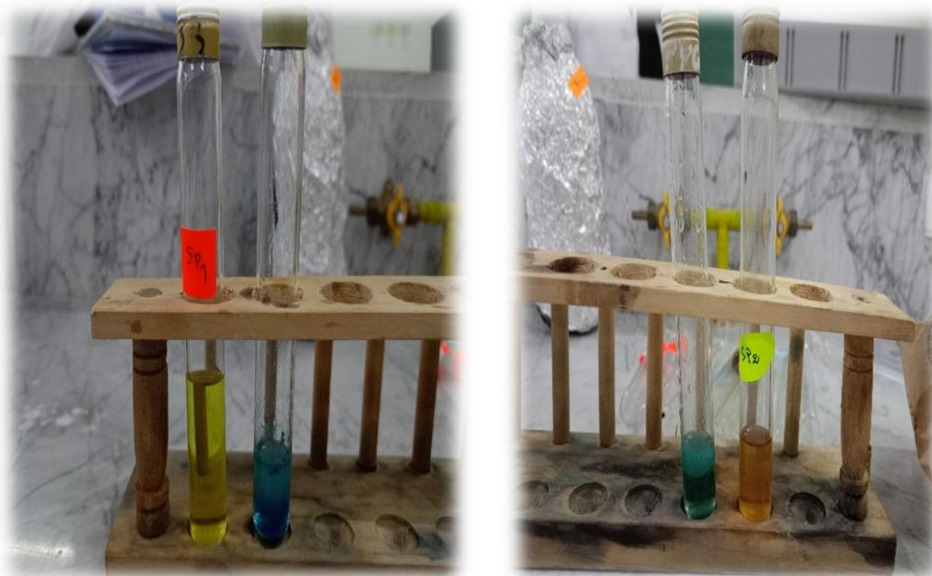
Annexes

Annexes

Annexe 01: Autres échantillons collectés

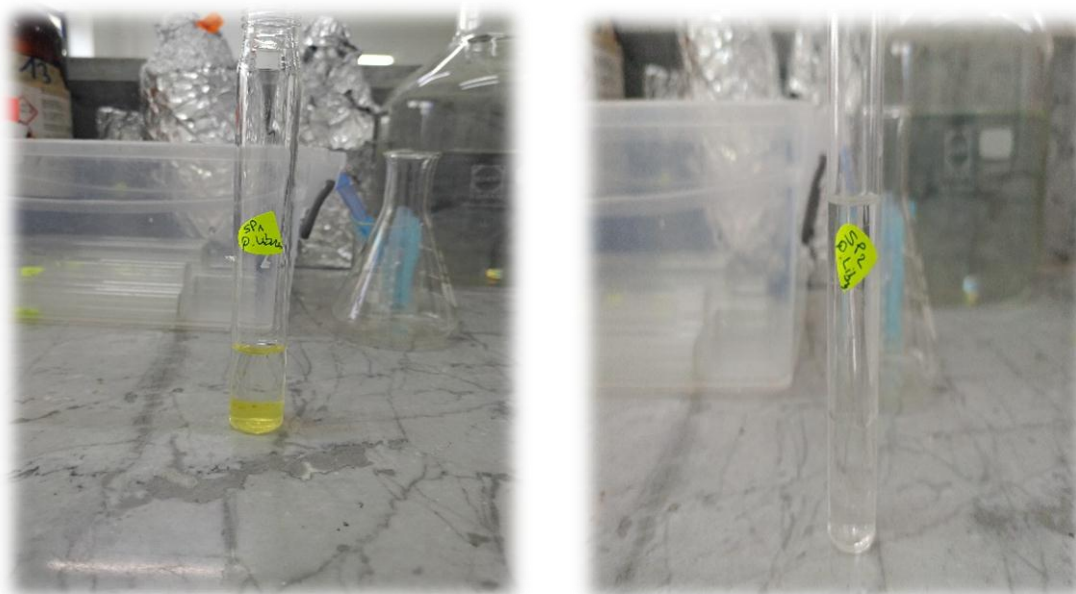


Annexe 02: Tests pour les sucres réducteurs des deux espèces *Evernia prunastri* et *Squamarina cartilaginea*



Annexes

Annexe 03: Tests des quinones libres pour les deux espèces *Evernia prunastri* et *Squamarina cartilaginea*



Annexe 04: Tests des alcaloides pour les deux espèces *Evernia prunastri* et *Squamarina cartilaginea*



Annexe 05: Tests des polyphénols totaux pour les deux espèces *Evernia prunastri* et *Squammarina cartilaginea*

