

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

جامعة جيجل

Université de Jijel

Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de l'environnement et
des sciences agronomiques



كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم علوم المحيط و العلوم الفلاحية

MIT, ENU, 15/14

1
1

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme : Master 2 Académique en Biologie

Option : toxicologie de l'environnement

Thème

**Dégradation des acides aminés et accumulation
des substances de défense chez le lichen *Xanthoria
parietina* stressé par le plomb et le fluor**

Membres de Jury :

Président : M^{me} Lemzeri H.

Examineur : M^{me} Amira W.

Encadreur : M^{me} Benhamada W.



Présenté par:

Charef Sarah

Chennah Majdeda

Année universitaire 2013-2014

Numéro d'ordre (bibliothèque) :

Listes des figures.....	i
Liste des tableaux.....	iii
Liste des abréviations.....	iv
Introduction générale	1

Partie I : La synthèse bibliographique

Chapitre I: étude de la végétation lichénique

I.1. Définition.....	2
I.2. Constituants des lichens	2
I.2.1 Mycobionte	2
I.2.2. Photobionte	3
I.3. Morphologie des lichens.....	3
I.4.Nutrition des lichens	6
I.4.1. Sources d'éléments nutritifs	6
I.5. Reproduction des lichens.....	7
I. 5.1. Reproduction asexuée	7
I.5.2. Reproduction Sexuée	7
I.6.Ecologie des lichens.....	8
I. 6.1. Les facteurs substratique	8
I.6.2.Les facteurs climatiques	9
1.6.3. Les facteurs biologiques.....	9
I.7. Usage des lichens.	9
I.7.1. Usage alimentaire.....	9
I.7. 2. Usage médicinaux	9
I.7.3. Usage industrie.....	10
I.7.4. Usage comme bio-indicateurs de pollution de milieu.....	10
I.7.5. les lichens nuisibles	11

Chapitre II : Le plomb

II. 1.généralité sur le plomb	12
II.1.1.Présentation du plomb	12
II.1.2. Propriétéphysico –chimique du plomb	12
II.1.3.le plomb et ces dérivées	13
II.1. 4. Utilisation du plomb	13

II.1.5. Sources d'émissions du plomb dans l'environnement.....	14
II.1.5.1.Source naturelle	14
II.1.5.2. Source anthropique	14
II.1.6.Effets toxique du plomb.....	14
II.1.6.1. Effets toxique du plomb sur l'environnement	14
II.1.6.1.1.Effets toxique du plomb sur le sol	15
II.1.6.1. 2. Effets toxique du plomb sur les milieux aquatique.....	15
II.1.6.1.3.Effets toxiques du plomb sur l'atmosphère.....	15
II.1.6.3.effets toxique du plomb sur la santé humaine	15
II.1.6.3.Effets toxique du plomb sur les végétaux	16
II.1.6.3.1. Effet toxique du plomb sur les végétaux supérieurs	17
II.1.6.3.2.Effet toxique du plomb sur les végétaux inférieurs	17

Chapitre III : le fluor

III.I. Généralité sur le fluor.	19
III.1.1 Présentation du fluor	19
III.1.2 Propriétés physico-chimique du fluor	19
III.1.3.Les composé minéraux gazeux	19
III.1.3.1.Le fluor	19
III.1.3.2.Fluorure d'hydrogène	20
III.1.3.3. Dérivé silices du fluor.....	20
III.1.3.4. Les fluorure	20
III.1.3.4.1.Le fluorure alcaline	20
III.1.4.Composés organique du fluor	20
III.1.4.1. Fréons ou chlorofluorocarbones	20
III.1.4.2.fluorocarbones	20
III.1.4.3. Anesthésiques fluorés	21
III.1.5. composés organiques naturels	21
III.1.6. Source d'émission	21
III.1.7. Effet toxique du fluor	21
III.1.7.1. Effet de fluor sur l'environnement	21
III.1.7.2.Effet du fluor sur la santé humaine	22
III.1.7.3.Effet du fluor sur les animaux	22
III.1.7.4. Effet du fluor sur la végétation	23

III.1.7.4.1.Effet sur les végétaux supérieurs	23
III.1.7.4.2. Effet sur les lichens	23

Partie II : La partie expérimental

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

IV.1.Matériel végétal	24
IV.2. Zone d'échantillonnage.....	24
VI.3. Prélèvement.....	24
IV.4. Description d'espèces	24
IV.5. Traitement des échantillons par polluants.....	25
IV. 6. Techniques de dosages	25
IV.6.1.Dosage du plomb par S.A.A	25
IV.6.2. Dosage de polyphénols et flavonoïdes.....	26
IV.6.2.1. Dosage du polyphénol	26
IV.6.2.2. Dosage de flavonoïdes	26
IV.6.3. Dosage des sucres solubles	26
IV.6.4.Dosage des acides aminés par HPLC.....	26
IV.6.5.Dosage peroxyde d'hydrogène	27
IV.6.6. Dosage du glutathion.....	27
IV.7. L'étude statistique	28

Chapitre V : Résultats et discussions.

V.1. Résultats	29
V.1.1. Résultats du dosage de plomb	29
V.1.2.Résultats du dosage des polyphénols.....	30
V.1.3. Résultats de dosage des flavonoïdes	30
V.1.4. Résultats de dosagedes sucres solubles	31
V.1.5. Résultats de dosage des acides aminées	32
V.1.6.Résultats de dosage peroxyde d'hydrogène.....	34
V.1.6. Résultats de dosage de glutathion.....	35
V.2.Discussion	37
Conclusion.....	41
Références bibliographiques	42

Annexes

Liste des figures

Figures	Titre	Pages
Figure 1	Phénomène de la symbiose	2
Figure 2	Coupe verticale à travers le Corps d'un lichen	3
Figure 3	Les lichens fruticuleux : <i>Cladonia portentosa</i> , <i>Pseudoevernia furfurea</i>	4
Figure 4	Lichens crustacés : <i>Aspicilia radiosa</i> , <i>Verrucaria macrostoma</i>	4
Figure 5	lichens foliacés : <i>Lobaria pulmonaria</i> , <i>Xanthoria parietina</i>	5
Figure 6	Lichens squamuleux : <i>Lecanoramuralis</i> ; <i>Lecanorarubina</i>	5
Figure 7	lichens gélatineux : <i>Collema auriculatum</i>	5
Figure 8	lichens complexes : <i>Cladonia Stereocaulon</i> , <i>Cladonia gracilis</i>	6
Figure 9	Les isidies et les soralies. les étapes de la reproduction sexuée	7
Figure 10	Les apothécie	8
Figure 11	Les apothécie	8
Figure 12	a) Coupe longitudinale à travers une apothécie lécidéine ou biatorine; (b) Coupe longitudinale à travers une apothécie lécanorine	8
Figure 13	Carte de djimare	24
Figure 14	<i>Xanthoria parietina</i>	25
Figure 15	Principe de dosage de GSH	28
Figure 16	Variation des teneurs du plomb chez le lichen <i>Xanthoria parietina</i> traité par différentes concentrations du plomb	29
Figure 17	Variation des teneurs en polyphénol chez le lichen <i>Xanthoria parietina</i> traité par différentes concentrations du plomb.	29
Figure 18	Variation des teneurs en polyphénol chez le lichen <i>Xanthoria parietina</i> traité par différentes concentrations du fluor.	30

Figure 19	Variation des teneurs en flavonoïde chez le lichen <i>Xanthoria parietina</i> traité par différentes concentrations du plomb	30
Figure 20	Variation des teneurs en flavonoïde chez le lichen <i>Xanthoria parietina</i> traité par différentes concentrations du fluor.	31
Figure 21	Variation des teneurs en sucre solubles chez le lichen <i>Xanthoria parietina</i> traité par différentes concentrations du plomb	31
Figure 22	variation des teneurs en sucres solubles chez le lichen <i>Xanthoria parietina</i> traité par différentes concentrations du fluor.	32
Figure 23	Chromatogramme d'HPLC par l'acide Aminé tyrosine avec le temps de rétention 1.869	32
Figure 24	Chromatogramme d'HPLC par l'acide Aminé tryptophane avec le temps de rétention 1.869	32
Figure 25	Chromatogramme d'HPLC par l'acide Aminé Glycine avec le temps de rétention 1.12	33
Figure 26	Chromatogramme d'HPLC par l'acide Aminé Méthionine avec le temps de rétention 1.850	33
Figure 27	Chromatogramme d'HPLC par l'acide Aminé Phénylalanine avec le temps de rétention 1.834	33
Figure 28	Chromatogramme d'HPLC par l'acide Aminé Proline avec le temps de rétention 1.893	33
Figure 29	Chromatogramme d'HPLC par l'acide Aminécystine avec le temps de rétention 1.897	33
Figure 30	variation des teneurs en H ₂ O ₂ chez le lichen <i>Xanthoria parietina</i> traité par différentes concentrations du plomb.	34
Figure 31	variation des teneurs en H ₂ O ₂ chez le lichen <i>Xanthoria parietina</i> traité par différentes concentrations du fluor	35
Figure 32	variation des teneurs en GSH chez le lichen <i>Xanthoria parietina</i> traité par différentes concentrations du plomb.	35
Figure 33	variation des teneurs en GSH chez le lichen <i>Xanthoria parietina</i> traité par différentes concentrations du fluor	36

Liste des tableaux

Tableaux	Tire de Tableau	Pages
Tableau 1	principales propriétés physico-chimiques du plomb	12
Tableau 2	principales propriétés physiques du fluor	19
Tableau 3	Effet du plomb et du fluor sur les acides aminés chez le lichen <i>Xanthoria parietina</i>	33

Liste des abréviations

Abréviation	Désignation
ADN	Acide désoxyribonucléique
AlCl ₃	Trichlorure d'aluminium
°C	Degrés Celsius
DO	Densité optique
DTNB	5-5'-dithiobis2-nitrobenzoïque
F	fluor
g	Gramme
HCl	Acide chlorhydrique
HPLC	Chromatographie haut performance liquide
H ₂ O	L'eau
Mn	minute
mM	Millimolaire
mg	milligramme
Na ₂ CO ₃	Carbonate de sodium
Naf	Fluorure de sodium
Pb	plomb
Pb(NO ₃) ₂	Nitrate du plomb
S.A.A	Spectrophotométrie d'absorption atomique
S	Seconde
TCA	Acide trichloracétique
TNB	Thionitrobenzoïque
μl	Microlitre
μg	Microgramme

Introduction

Le terme de la pollution désigne l'ensemble des rejets de composés toxique que l'homme libère dans l'écosphère, et qui exercent une influence perturbatrice sur l'environnement. Cependant, le développement des activités industrielles a provoqué un accroissement des pollutions dans l'air, les eaux et le sol (semlali et al, 2001).

La pollution atmosphérique est l'une des importantes manifestations de la dégradation de l'environnement car elle menace l'élément le plus directement nécessaire à la vie, par conséquent les atteindre à la qualité de l'air sont toujours perçues comme une menace directe pour notre santé. (Ramade, 1995).

La surveillance de la qualité de l'air repose sur l'utilisation d'organismes bio-indicateurs permet d'observer et d'analyser les réactions des organismes vivants exposés de façon plus ou moins chronique à des polluants atmosphériques. Ils constituent un moyen d'évaluation des pollutions là où il n'y a pas de capteurs, un moyen facile et peut couteux (Goujon, 2004).

Parmi ces organismes, les lichens se sont révélés être d'efficaces sentinelles dans la détection de la qualité environnementale (Signoret, 2004).

Les lichens sont capables d'accumuler de grandes quantités de polluants tel que le plomb et le fluor, ils réagissent avec ces polluants en présentant souvent des altérations physiologiques, morphologiques et structurales (semadi, 1989)

Pour étudier les effets du plomb et du fluor sur les lichens, on a utilisé l'espèce lichénique *Xanthoria parietina* et pour cela on a organisé notre travail en trois grandes parties :

- Premièrement une étude bibliographique sur la végétation lichénique, et une étude sur le plomb et le fluor.
- Deuxièmement une étude expérimentale, divisée en deux parties ; une consacré au matériel et méthodes et l'autre illustre les résultats et la discussion.
- Et enfin on a terminé ce travail par une conclusion.

1.1. Définition

La définition la plus commode est celle qui consiste à reconnaître un lichen comme une entité morphologique et physiologique autonome, composée d'au moins un champignon (appelé le **mycobionte**) et d'au moins un partenaire photosynthétique, c'est-à-dire capable de fixer le dioxyde de carbone grâce à la lumière, et dès lors souvent qualifié d'algal (appelé le **photobionte**). (Sérusiaux et al, 2004)

L'algue ou la cyanobactérie, quant à elle, par son activité photosynthétique, va fournir au champignon la matière organique nécessaire à son existence. Cette association étroite et à bénéfice réciproque entre ces deux êtres vivants se nomme **symbiose**. (figure 1)

Les lichens sont souvent des espèces pionnières des successions écologiques dans les biotopes terrestres. Ils constituent aussi du fait de cette écophysiology particulière d'excellents bio-indicateurs de pollution atmosphérique (Ramade, 2002).

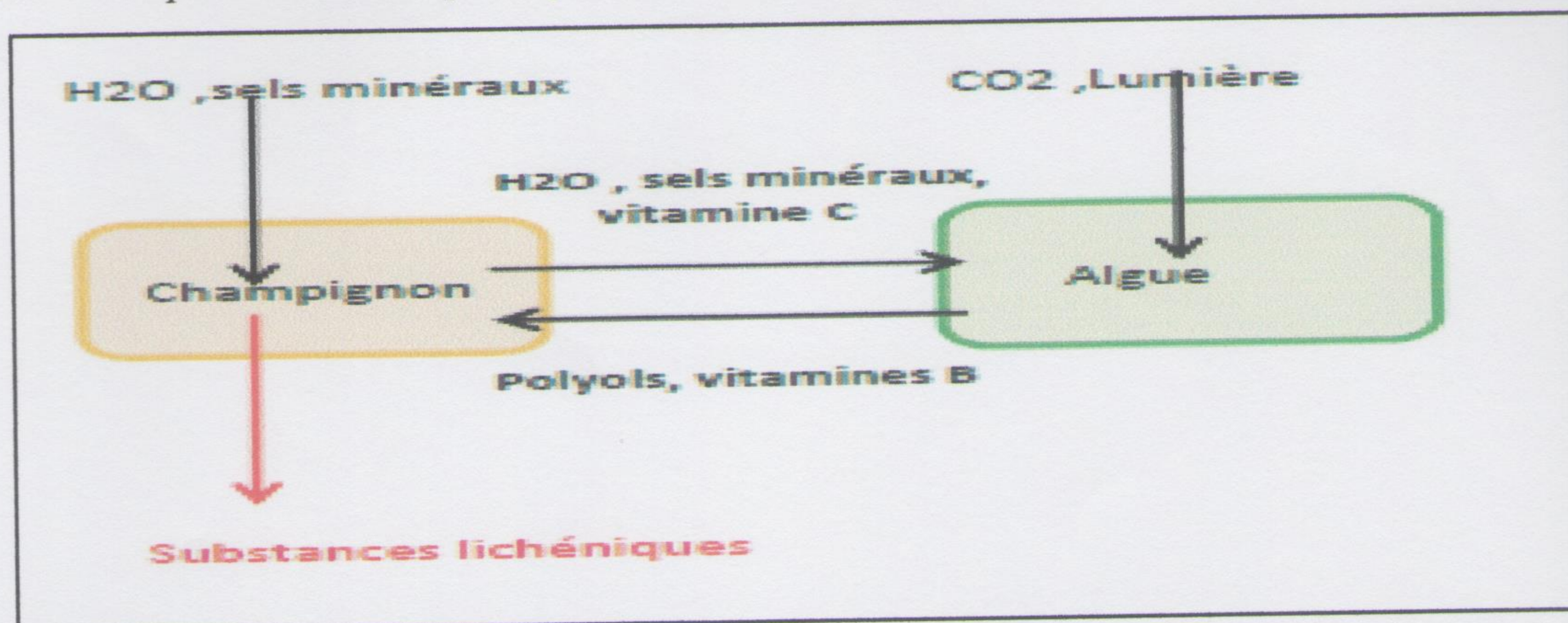


Figure 1 : phénomène de symbiose D'après « La symbiose » de M-A Selosse .

1.2. Constituants des lichens :

1.2.1. Le mycobionte

Le mycobionte appelé aussi mycosymbiot.

Le champignon d'un lichen constitue, dans pratiquement tous les genres présents dans nos contrées, le partenaire dominant de la symbiose, et c'est donc lui qui organise celle-ci.

Les champignons sont généralement des organismes constitués par des mycéliums filamenteux (Ramade ; 2002).

Selon leur morphologie, leur reproduction, leur mode de vie sont si diversifiés que les champignons sont souvent regardés comme formant plusieurs embranchements distincts (Ozenda, 2002). Les ascomycètes, les basidiomycètes et les Deutéromycètes (Ramade, 2002).

Les mycobionte contrôle la vitesse de division du photobionte et fournit un environnement physique qui permet son développement, il absorbe les minéraux nécessaires à partir de l'air sous forme de poussière ou à partir de l'eau de pluies (Raven et al, 2000).

I.2.2. Le photobionte :

Le photobionte appelé phycosymbiote.

Un réseau d'hyphes, filaments généralement blanchâtres, dont l'ensemble forme la médulle et qui contient le partenaire algal. C'est également lui qui organise éventuellement un cortex, tissu généralement plus compact, qui, s'il est présent, forme la limite avec l'environnement extérieur (figure2).

Des organismes généralement inféodés aux zones humides, le plus souvent photosynthétique et possède de la chlorophylle a (Raven et al, 2000).

I.3. Morphologie des lichens :

Le champignon est responsable de la morphologie des lichens, c'est-à-dire de la forme du corps du lichen. Le corps d'un lichen est appelé **thalle**. Le thalle est formé par un réseau de filaments nommés **hyphes** (ils sont comparables au mycélium des champignons). C'est au milieu d'un enchevêtrement de ces filaments que se trouvent les **algues**.

Au niveau de la partie inférieure du thalle, on observe un nouvel entrelacement de filaments servant à fixer le lichen à un support, ce sont les **rhizines** (Figure2).

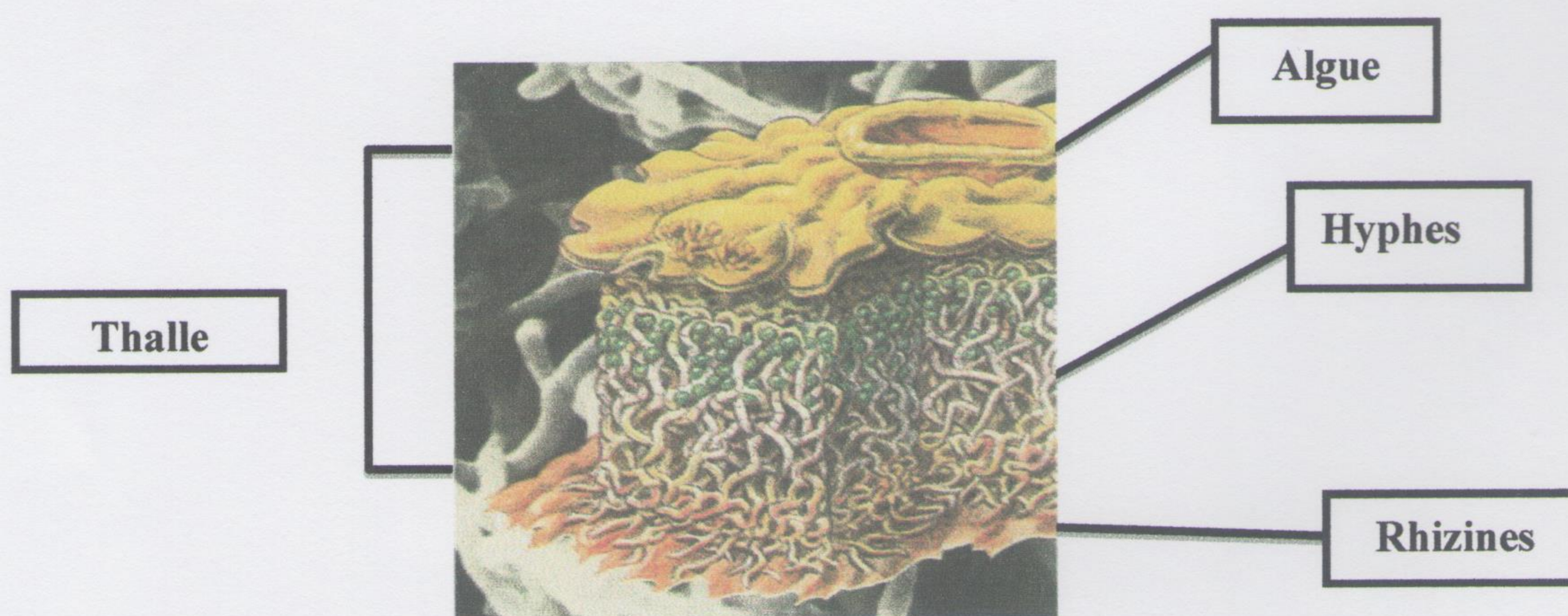
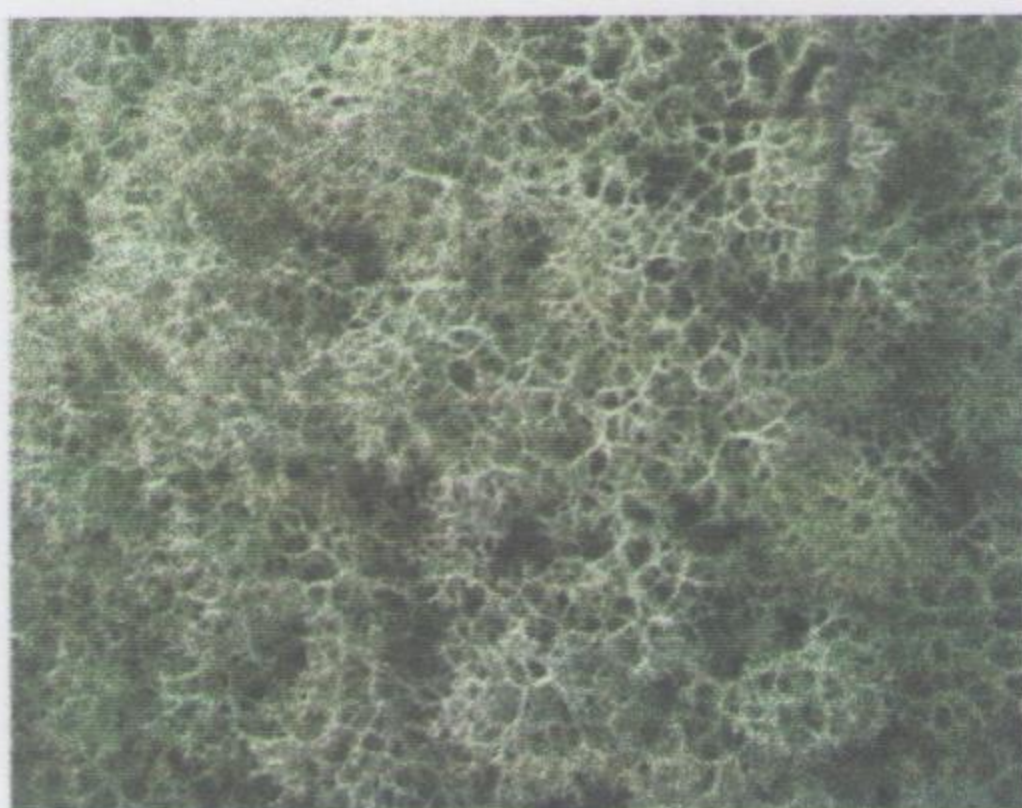


Figure 2: Coupe verticale à travers le corps d'un lichen (illustration d'Ahmadijian et Jacobs, in Anonyme, 1998).

Le thalle est l'appareil végétatif du lichen qui assure sa nutrition, sa survie et sa croissance. Il va présenter une morphologie spécifique, différente de celle des algues et des champignons libres. Selon la morphologie de thalle, on peut distinguer plusieurs types de lichens :

➤ **lichens fruticuleux :**

Concerne les thalles formés de petites branches ou cylindres, éventuellement aplatis mais généralement de symétrie typiquement radiaire. Ces thalles peuvent former de petits buissons, dressés ou pendants. (Figure3)



Cladonia portentosa

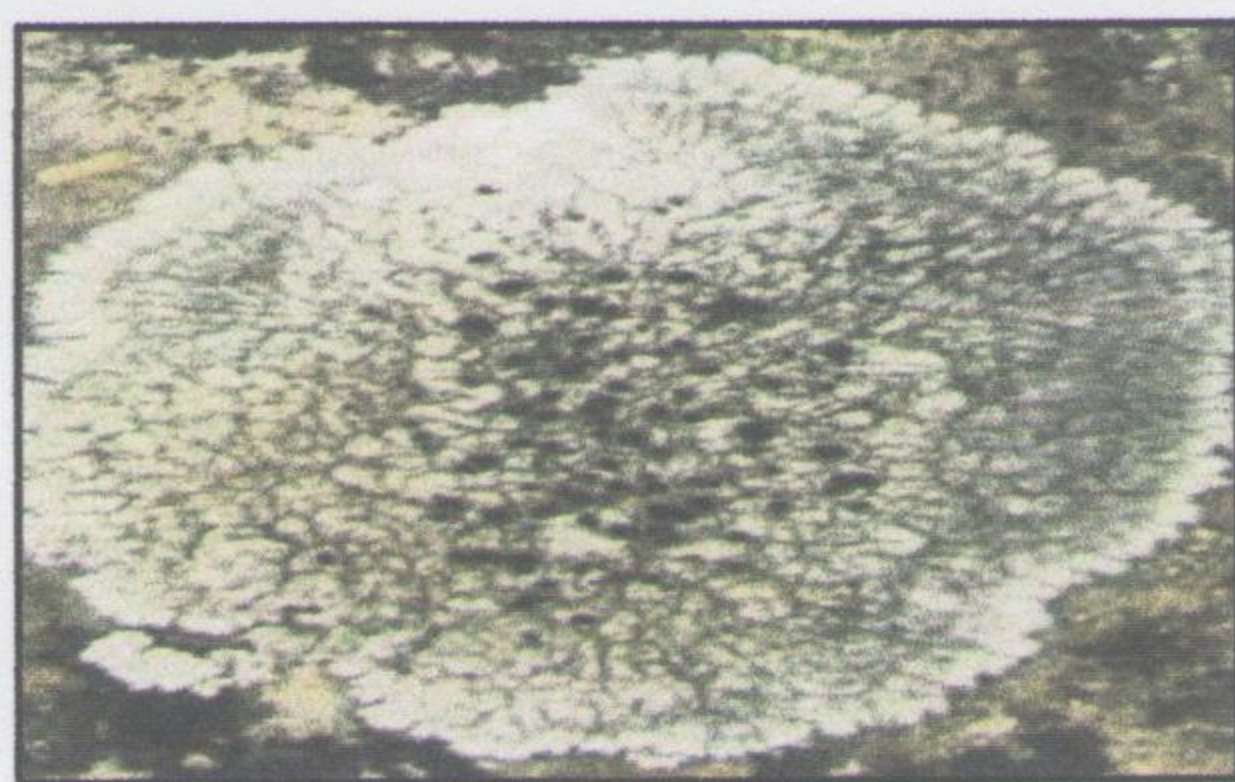


Pseudoevernia furfurea

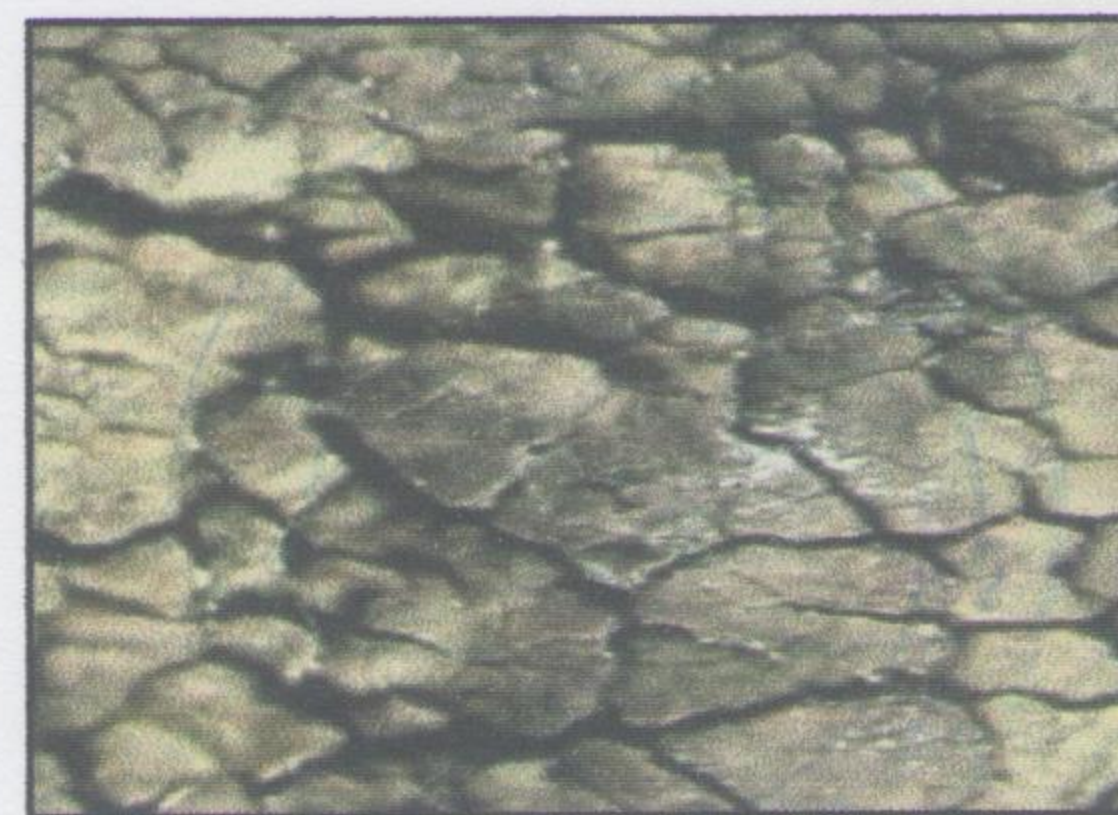
Figure3 : lichens fruticuleux (Bellenfant et al, 2010).

➤ **Lichens crustacés :**

Forment des thalles ressemblant à des croûtes, ils adhèrent au support sur toute leur surface ; ils ne peuvent en être détachés. (Figure4)



Aspicilia radiosa

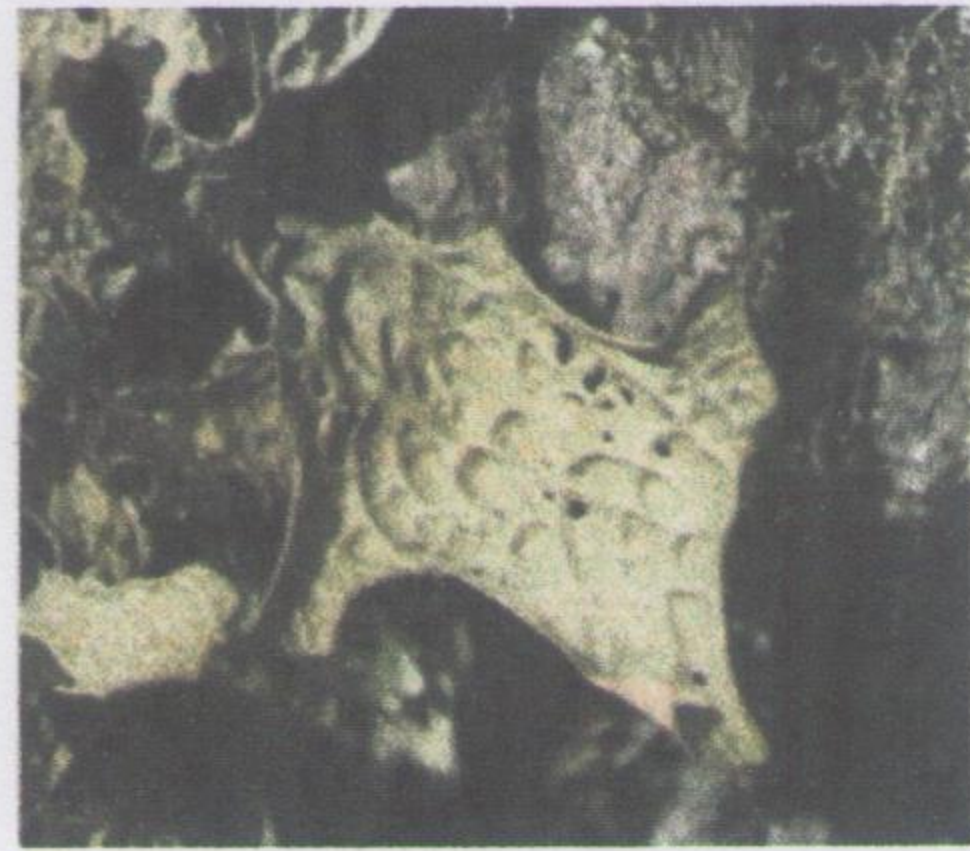


Verrucaria macrostoma

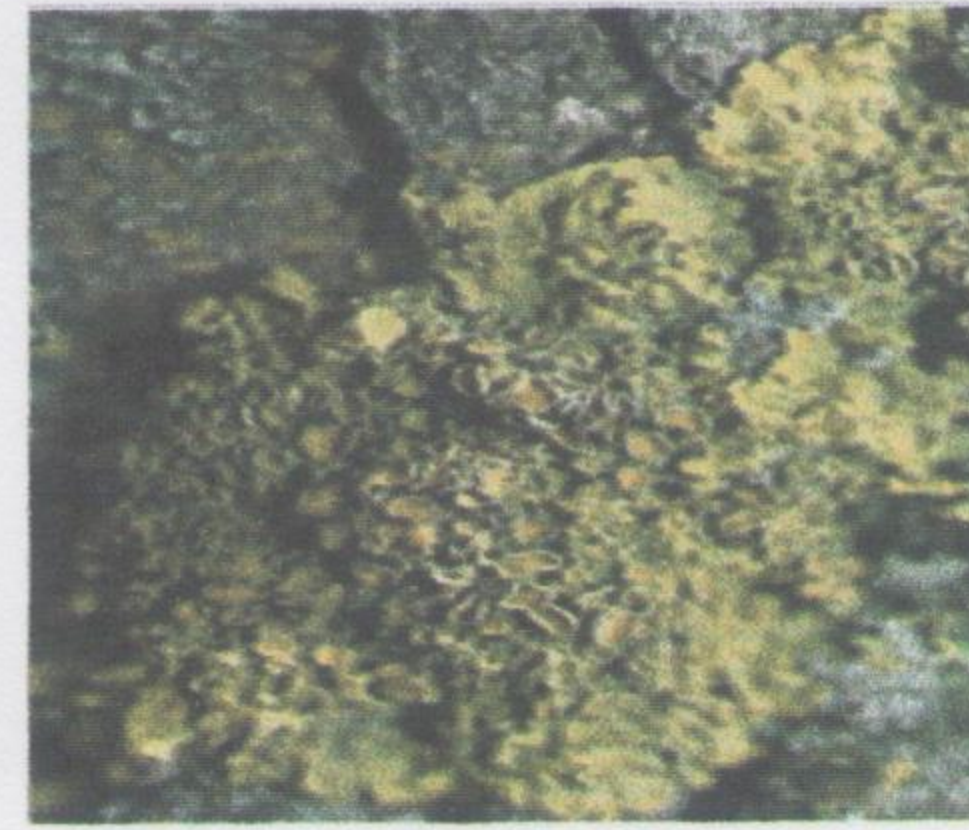
Figure 4 : lichens crustacés. (Bellenfant et al, 2010).

➤ **Lichens foliacés :**

Ce type de lichens a la forme d'une feuille plus ou moins ramifiée, adhérente à son substrat, ou bien fixée au substrat par un crampon central unique (**Figure 5**).



Lobaria pulmonaria



Xanthoria parietina

Figure 5 : lichens foliacés. (Bellenfant *et al*, 2010).

➤ **lichens squamuleux**

Ces lichens sont composés d'écailles ou de lobes plus ou moins adhérents au substrat, mais pouvant aisément s'en détacher (**figure6**)



Lecanora muralis



Lecanora rubina

Figure 6: lichens squamuleux (Bellenfant *et al*, 2010).

➤ **lichens gélatineux :**

Ce sont ceux qui contiennent des cyanobactéries. La structure est homogène sans strates différenciées (dit homéomères) (ozenda, 2000) (**figure 7**).

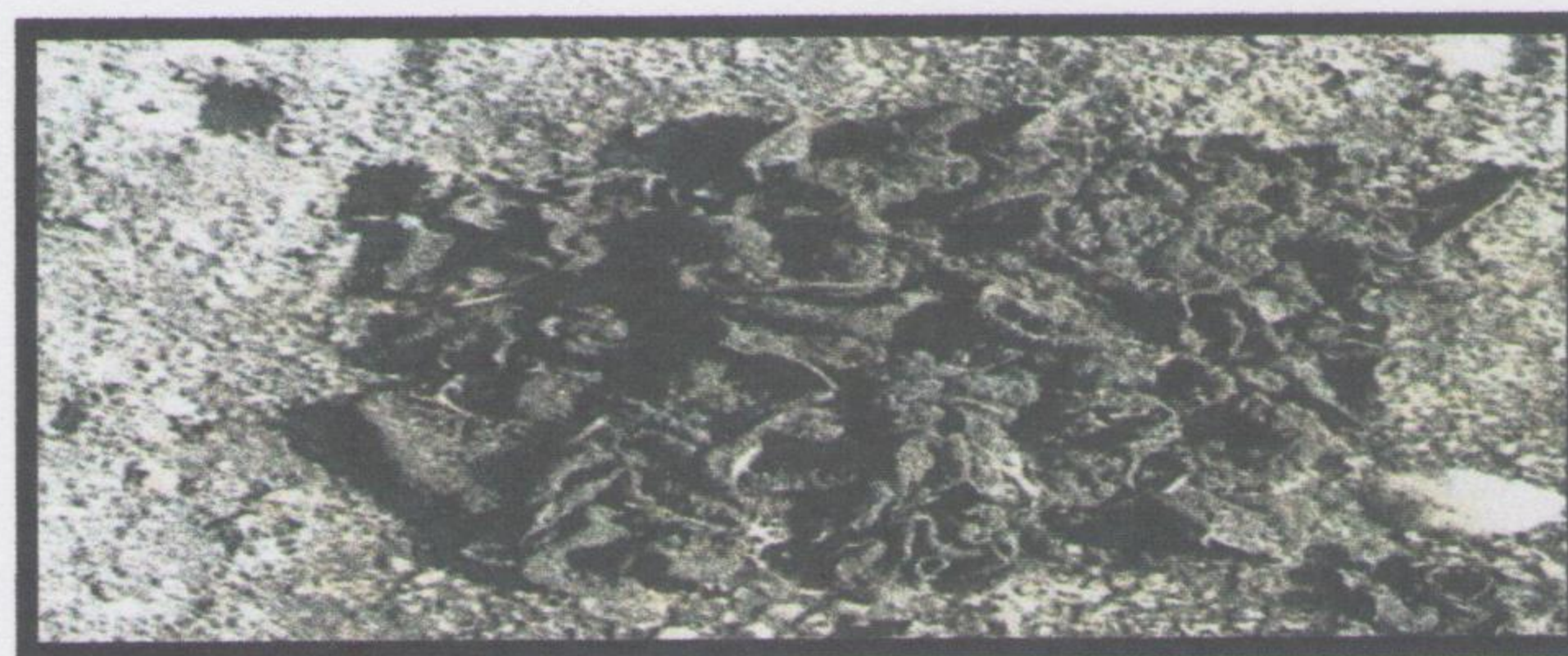


Figure7 : lichens gélatineux, *Collema auriculatum* (Béguinot, 2010).

➤ les lichens complexes :

Ils présentent un thalle primaire foliacé-squamuleux, adhérent au substrat, et un thalle secondaire dressé, plus ou moins ramifié, développé dans un second temps sur le thalle primaire. Ex : les *Cladonia Stereocaulon* (figure 8).



Cladonia Stereocaulon



Cladonia gracilis

Figure 8: lichens complexes. (Bellenfant et al, 2010).

1.4. Nutrition des lichens

La symbiose lichénique suppose un échange entre l'algue et le champignon :

- ✓ l'algue assure la nutrition carbonée grâce à la photosynthèse. Elle apporte des vitamines, des protéines et des glucides au champignon ;

- ✓ Le champignon assure une fonction de protection et de drainage hydrique vis-à-vis de l'algue. Il a la possibilité de stocker l'eau dans ses membranes et de la transmettre à l'algue par ses parois.

La nutrition minérale est assurée par les poussières et des sels dissous apportés par l'eau.

(Goujon ,2004)

1.4.1. Sources d'éléments nutritifs

La précipitation occulte et les précipitations sont très importantes pour lichens à la fois pour les éléments nutritifs et en tant que source d'humidité (Garty *et al*, 1979).

Les lichens n'ont pas de stomates, et donc ils échangent des gaz à travers toute leur surface (Nash, 2008). Les lichens ont un rôle important dans le cycle et le soufre.

De nombreux lichens se développent sur des sols ou des roches et sont donc en contact étroit avec des sources lithiques de nutriments. Les lichens peuvent affecter l'altération des surfaces rocheuses par des moyens mécaniques et chimiques et, une fois les éléments nutritifs sont solubles, l'absorption dans le lichen peut se produire. La plus grande disponibilité de calcium se fait dans le calcaire. Existe des différences évidentes par rapport aux roches acides. Le calcaire et Solubilité des nutriments est affectée par le pH, ce qui implique que la disponibilité des éléments nutritifs peut

être très différente entre le substrat calcaire et les substrats acides donc il est évident que les lichens préfèrent les substrats d'acide (Wirth, 1972, Roux, 1981).

Les lichens n'ont pas de stomates, et donc ils échangent des gaz à travers toute leur surface (Nash, 2008).

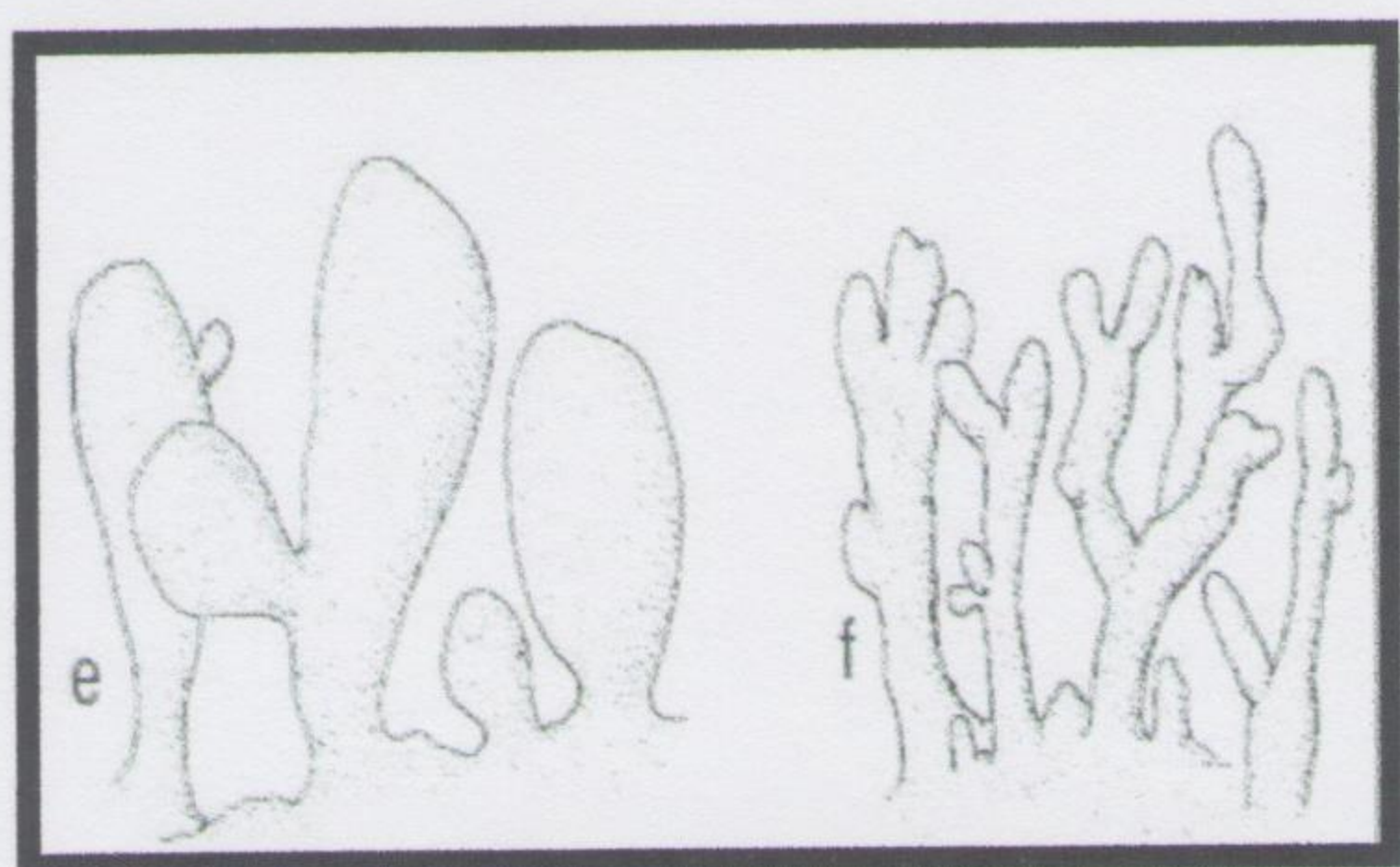
1.5. Reproduction des lichens :

Les lichens subsistent longtemps à l'état sec et deviennent cassants. Leurs fragments dispersés par le vent, les animaux ou la pluie, seront capables de régénérer un thalle. La reproduction permet au lichen de coloniser de nouveaux substrats lorsque les conditions sont favorables. Deux modes de reproduction peuvent être adoptés, sexuée et asexuée. Seul le champignon est capable de reproduction sexuée.

1.5.1. La reproduction asexuée :

La reproduction végétative est assurée par la production de propagules pulvérulentes particulières appelées sorédies, ou par de petites excroissances les isidies (Raven *et al*, 2000), le complexe lichénique peut se disséminer globalement, soit sous la forme de fragments de thalle, soit le jeu d'organes spéciaux, les soralies (Ozenda, 2000).

Les isidies sont des petites protubérances cortiquées formées à la surface du thalle et qui peuvent s'en détacher. Les soralies sont des petites masses farineuses ou granuleuses, elles-mêmes constituées de petits amas comprenant quelques cellules algales entourées d'hyphes (Sérusiaux *et al*, 2004).



Les isidies (Wirth, 1995).



Les soralies (Kirschbaum et Wirth, 1997).

Figure 9 : les isidies et les soralies . (Kirschbaum et Wirth, 1997).

1.5.2. La reproduction sexuée

Les apothécies sont des organes qui indiquent la reproduction sexuée. La reproduction sexuée se déroule en deux phases :

- 1- Dans le même thalle, des « hyphes + » et des « hyphes - » (sortes de filaments du champignon) fusionnent et forment des boutons appelés apothécies qui vont produire des spores.
- 2- Ces spores facilement transportées par le vent vont constituer de nouveaux des hyphes asexués qui devront capturer et emballer une algue présente dans le milieu de façon à pouvoir donner naissance à un nouveau lichen (**Bellenfant et al. 2010**).

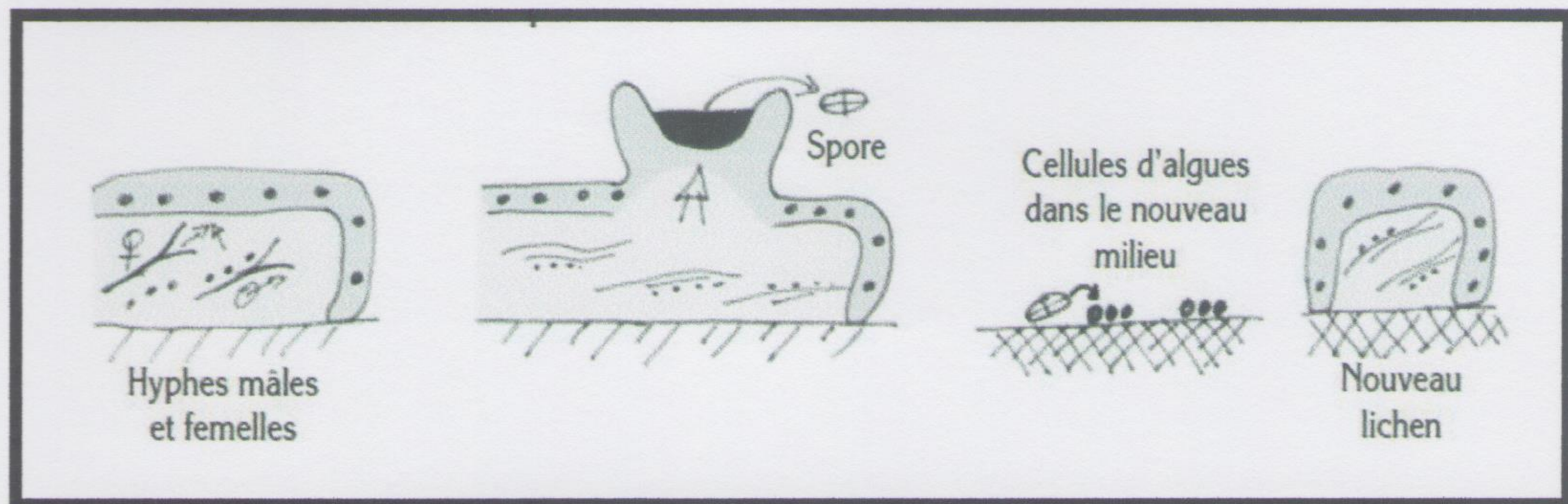


Figure10 : les étapes de la reproduction sexuée (**Bellenfant et al. 2010**).



Figure 11 : Les apothécies (**Perrot, 2002**)

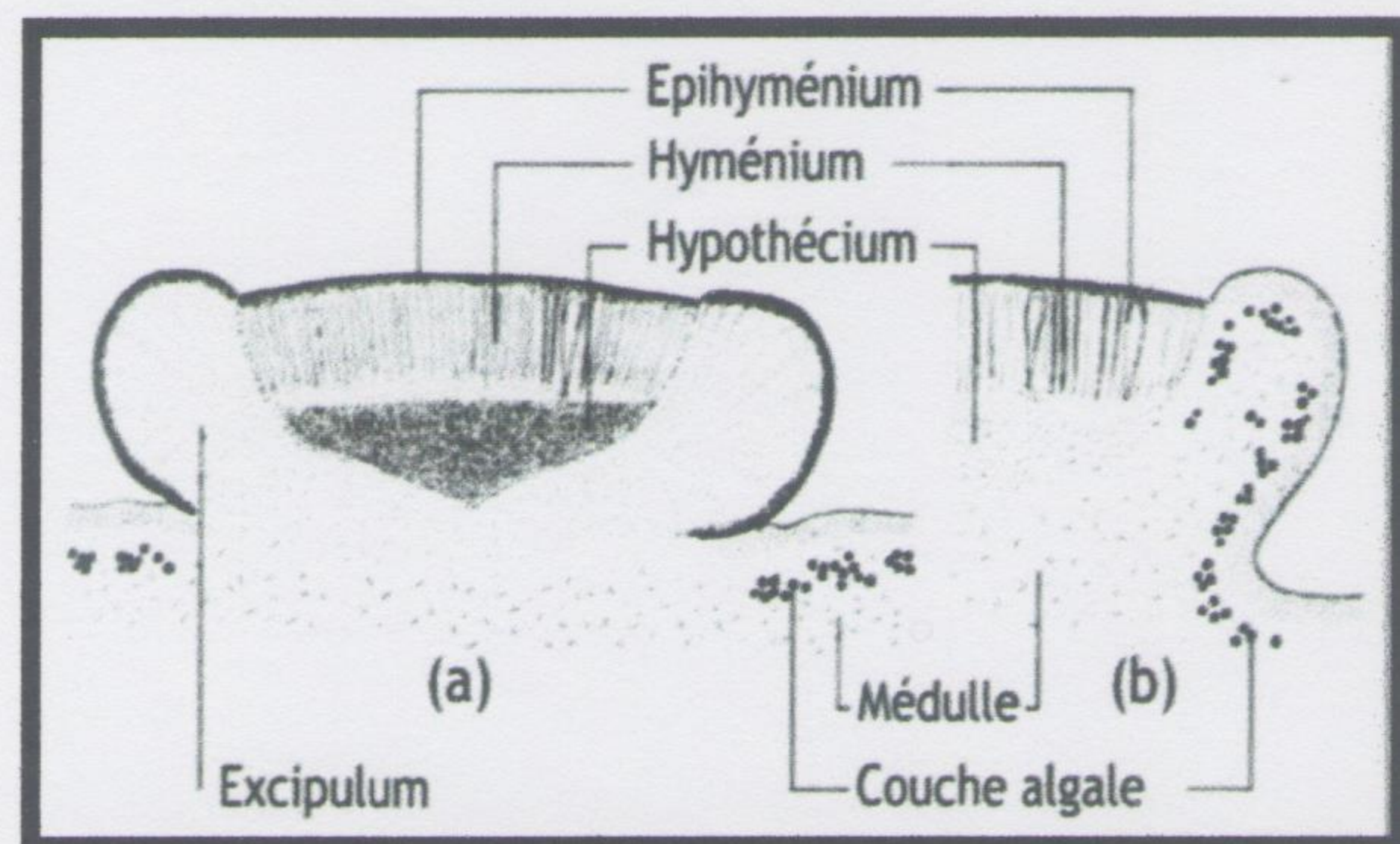


Figure12 : (a) Coupe longitudinale à travers une Apothécie lécidéine ou biatorine; (b) coupe longitudinale à travers Une apothécie lécanorine (**Wirth, 1995**).

I.6. Ecologie des lichens

Chaque espèce de lichen a besoin, pour se développer, de conditions écologiques particulières.

La répartition des lichens est influencée par différents facteurs :

I.6.1. Les facteurs substratiques :

Par ailleurs, on peut considérer les lichens comme des espèces pionnières. Ils sont les premiers, avec les mousses, à coloniser des substrats nus tels que la roche.

Les lichens sont donc présents dans le monde entier et en fonction de certains critères tels que la nature du substrat on peut les classer :

Les lichens saxicoles se développent sur la roche.

Les lichens corticoles se développent sur l'écorce des arbres.

Les lichens lignicoles se développent sur le bois mort

Les lichens terricoles qui se développent sur le sol (Gregory et Mary, 2004).

I.6.2. Les facteurs climatiques :

Le climat et l'humidité La ressource en eau et l'éclairement du support sont des facteurs écologiques essentiels dans la répartition des lichens et de leur localisation sur leurs supports.

Les lichens passent de l'état de vie ralentie à celui de vie active (reviviscence).en réponse des données climatiques. Les lichens se rencontrent sous tous les climats et toutes les latitudes. (Goujon, 2004).

I.6.3. Les facteurs biologiques :

L'action des êtres vivant est également déterminante dans la répartition des lichens, soit ils disputent leur espaces, soit ils modifient de milieu. Ces facteurs biologiques sont :

- La concurrence vitale entre les lichens eux-mêmes.
- La concurrence entre les lichens et les autres végétaux.
- L'action des animaux et principalement de l'homme (Ozenda et Glauzade,1970).

I.7. Usage des lichens :

Les lichens ont été utilisés depuis l'Antiquité comme plantes médicinales et pour de multiples autres usages alimentaires ou artisanaux.

Voici quelques usages :

I.7. 1. Usages alimentaires

Certains lichens contiennent des macromolécules de lichénine dégradées en glucose au cours de la digestion. Ils peuvent être utilisés pour l'alimentation des animaux.

Cladonia rangiferina : lichen des rennes. *Cetraria islandica* qui contient 60% de glucides, utilisé pour l'alimentation des porcs, des chevaux et des vaches dans les pays nordiques. D'autres lichens sont utilisés pour l'alimentation humaine : la mousse d'Islande (*Cetraria islandica*) dans les pays nordiques, les tripes de roche (divers *Umbilicaria*) au Canada et au Japon et dans les déserts asiatiques une espèce fruticuleuse le *Rhizoplaca esculenta* ou "manne du désert", qui aurait sauvé les Hébreux de la famine.

I.7.2. Usage médicaux :

Le principal intérêt des lichens en médecine est leur potentiel antibiotique. Ils sont également utilisés en homéopathie pour la fabrication de sirops et de pastilles.

D'autres sont capables de nous donner des antibiotiques particulièrement actifs à des doses très faibles (1/20 000 des doses habituelles) contre les bactéries GRAM+. Ex : Certains *Ramalina*, *Alectonia*, *Usnea* sont riches en acide usnique ; toxiques par voie parentérale ils donnent d'excellents résultats en usage externe. En 1989 ont été découvertes des propriétés antitumorales et inhibitrices de la réplication du virus du SIDA.

I.7.3. Usage industriel :

Les huiles essentielles de certaines espèces de lichens sont utilisées pour la fabrication de parfums et de savons. Les lichens sont également connus pour la fabrication artisanale de teintures.

Evernia prunastri (la mousse du chêne) et *Pseudoevernia furfurea* (mousse des arbres). On en récolte chaque année entre 8 000 et 9 000 tonnes pour les parfums à odeur de "Chypre", de "cuir de Russie" ... Fabrication artisanale de matières colorantes.

I.7.4. Usage comme bio-indicateurs de la pollution atmosphérique :

Ils permettent dans certaines conditions d'évaluer :

- la chimie et la stabilité des sols,
- la hauteur moyenne de l'enneigement,
- l'âge des moraines et le recul des glaciers,
- le degré de pureté de l'atmosphère,
- le type de gestion forestière,
- la quantité de polluants (plomb, fluor, radioéléments...) présents dans un milieu donné.

Les impacts anatomiques et physiologiques des polluants sur les lichens sont liés à la nature des molécules toxiques. Les molécules les plus fréquentes sont : les dioxydes de soufre, le fluor, le plomb, les diverses substances azotées et des radioéléments. Les SO₂ agit sur l'activité photosynthétique, les teneurs en chlorophylle diminuent quand les teneurs en SO₂ augmentent, (déformation des mitochondries) (**Holopainen et Kauppi, 1989**).

Les lichens sont d'excellents bio-accumulateurs, ont la faculté d'accumuler certaines substances telles que les métaux lourds, les pesticides et les polluants organiques (**Goujon, 2004**). Les lichens peuvent être aussi des accumulateurs de retombés radioactifs (**Ozenda, 2000**).

I.7.5 lichens nuisibles :

L'action des lichens sur leur substrat peut-elle en dommageable, les lichens peuvent effectivement éroder différents supports, en provoquant parfois sur des monument des dégâts une attaque physique et chimique de l'écorce, et parfois du bois, par dissociation mécanique des tissus et hydrolyse du ciment intracellulaire s'accompagne peut-être de la diffusion de substance lichéniques jouant un rôle phytocide pour l'hôte (**Ozenda et clauzade, 1970**).

II.1. Généralités sur le plomb :

II.1.1. Présentation du plomb :

Le plomb, du latin plumbum, est un métal mou, gris, sans gout ni odeur caractéristique, il se trouve habituellement en petite quantité dans la croûte terrestre. Il appartient au groupe IV b de la classification périodique des éléments (Sposito et al, 1982).

II.1.2. Propriétés physico- chimique du plomb :

Les principales propriétés physico- chimiques du plomb sont présentées dans le tableau 1.

Sa configuration électronique est $[Xe] 4f^{14} 5d^{10} 6s^2 6p^2$, avec deux électrons non appariés sur la dernière couche cette configuration électronique autorise les degrés d'oxydation (+2) et (+4), en plus de la forme métal (0) (Sposito et al, 1982).

Ses principaux oxydants sont :

- ✓ L'oxyde de plomb (PbO).
- ✓ Le dioxyde de plomb (PbO₂).
- ✓ Le minium (Pb₃)

Tableau 1 : principales propriétés physico-chimiques du plomb (ANSES 2011).

Nom	Masse molaire (g/mol)	Solubilité dans l'eau	Point de fusion (°C)	Point d'ébullition (°C)	Tension de Vapeur	Aspect
Pb, plomb Métallique	207.2	insoluble	327.4	1740	0,133 kPa à 973°C	Solide gris
PbO ₂ , dioxyde de plomb	239.2	insoluble	290	-	-	Poudre Cristalline
PbO, oxyde de plomb	223.21	Peu soluble	888 à 897	1472	-	Cristaux Jaunes

II.1.3. Le plomb et ses dérivés :

Le plomb existe dans la nature sous deux formes : organique et inorganique

✓ Les dérivées inorganiques :

- la galène (PbS)

- la litharge et massico (PbO)

-le minium (Pb₃O₄)

✓ Les dérivées organiques :

-Le plomb tetramethyle (Pb(C₂H₅)₄)

-Le plomb tétra méthyle (Pb (CH₃)₄)(lauwerys, 1992).

II.1.4. Utilisation du plomb :

Traditionnellement employé dans l'imprimerie et dans la métallurgie (fonderie), à l'état pur ou sous forme d'alliages, le plomb est aussi présent dans de nombreux autres secteurs d'activités :

(Bonnard et al, 2006)

- La fabrication et la réparation des accumulateurs au plomb ;
- La récupération des batteries ou de vieux métaux ;
- Le découpage au chalumeau des tôles et charpentes recouvertes de vieilles peintures au plomb ;
- La fabrication et l'application des émaux et frites au plomb (poterie, faïencerie) ;
- L'ébarbage et polissage de tous objets en plomb ou en alliage de plomb ;
- Le soudage à « l'étain » ;
- La fabrication et l'utilisation de pigments au plomb pour certaines peintures (chromate de plomb, minium ...)
- Certains traitements de surface ;
- Verres au plomb (cristal, verres technique).

II.1.5. Sources d'émission du plomb dans l'environnement :

Le plomb retrouvé dans l'environnement provient de sources naturelle, anthropique (Jan et Sheffield, 1993 ; boutron et Patterson, 1993). Ce métal est présent dans le sol,

Mais également dans tous les autre compartiments de l'environnement : eau, air et même dans les êtres vivants (Arnaud, 2003)

II.1.5.1. Sources naturelles :

Le plomb est présent dans la croûte terrestre et dans tous les compartiments de la biosphère. Dans l'air, les émissions de plomb provenant de poussières volcaniques véhiculées par le vent sont reconnues d'une importance mineure. D'autres processus naturels, comme la dégradation et l'érosion du sol et les feux de forêt, contribuent de façon significative à la libération de plomb. Mais généralement, ces processus naturels ne conduisent que rarement à des concentrations élevées de plomb dans l'environnement (Pais et Benton, 2000).

II.1.5.2. Sources anthropiques :

Les émissions du Pb sont généralement anthropiques. Ils proviennent d'abord des industries de première et deuxième fusion du plomb, des rejets des véhicules à moteur. Les rejets aquatiques les plus importants proviennent de la sidérurgie. Dans les sols, la présence de plomb est naturelle ou résulte des retombées atmosphériques et localement des déchets industriels solides provenant de l'extraction de minerai de plomb, du recyclage des batteries électriques ou de l'affinage de plomb. Dans les sols, la détérioration de la peinture à base de plomb recouvrant des surfaces peintes constitue également une source de pollution par le plomb (El Abidi, 1997)

II.1.6. Effets toxiques du plomb :

L'impact toxique de la pollution par le plomb, concerne à la fois l'environnement, la santé humaine, les animaux et les végétaux. Cet impact peut également être en lien avec la durée d'exposition et la dose administrée ou accumulée dans les organismes.

II.1.6.1. Effets toxiques du plomb sur l'environnement :

En dépit de ses grandes qualités, le plomb est un important contaminant de l'environnement du fait qu'il est toxique et persistant et qu'il peut être « absorbé » et emmagasiné dans les tissus biologiques.

II.1.6.1.1. Effets toxiques du plomb sur le sol :

Le taux d'absorption du plomb est en fonction des propriétés du sol. Il est surtout abondant dans tous les horizons supérieurs en raison de son affinité avec les substances humiques.

Les sols constituent un milieu d'accumulation important pour les dérivés du plomb, parmi ses effets, le plomb inhibe la respiration du sol et diminue la fertilité de ce dernier.

II.1.6.1.2. Effets toxiques du plomb sur les milieux aquatiques :

Généralement la teneur en plomb des eaux de surface non contaminées ne dépasse pas 0.1 mg /L (en moyenne 0.025mg / L). L'eau de mer en contient 0.03 mg /L et les eaux de pluies 5 mg /L (Rodier et al, 1984).

Les dérivés de plomb insolubles s'accumulent au fond de l'eau, se fixant sur les sédiments ou sur des matières en suspension (surtout sur la fraction argileuse). l'augmentation de la concentration de ces dérivées à des effets nocifs dans le milieu aquatique dont :

- L'oxydation biochimique de substances organiques est freinée à partir 0.1 mg /L.
- L'appauvrissement de la faune aquatique à partir de 0.2 mg / L et précisément à partir de 0.3 mg /L. les première espèces de poissons commencent à dépérir.

En cas de contamination par les dérivés solubles, le plomb présente un risque pour les eaux souterraines (chlorure et nitrate de plomb) (Anonyme, 1985).

II.1.6.1.3. Effets toxiques du plomb sur l'atmosphère :

La concentration en plomb dans l'air est naturellement très basse on l'estime à environ 0.0005 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (Impens, 1974 in Boulekroune, 2005).

En fonction de la vitesse et la direction des vents, de l'importance des précipitations et de l'humidité de l'aire, les dérivés du plomb peuvent être transportés sur de longues distances. Cependant, la plus grande partie du plomb présente dans l'atmosphère se dépose directement ou est lessivée par les précipitations.

Le plomb se fixe sur les petites particules de poussières en suspension dans l'aire, les quelles se déposent à leur tour sur la végétation et sur le sol (Anonyme, 1985).

II.1.6.2. Effets toxiques du plomb sur la santé humaine :

Les risques toxiques du Pb sont multiples, réversibles ou non, et liés à des intoxications aiguës (fortes doses sur un court terme) ou des intoxications chroniques (petites doses sur le long

terme). En effet, l'exposition régulière au plomb peut entraîner de nombreux problèmes de santé regroupés sous le terme de « saturnisme » et pouvant devenir très graves. (INRS 2010).

Le Pb présent dans l'environnement pénètre dans l'organisme humain par voie digestive via les aliments et les boissons ou par voie aérienne.

Par inhalation des poussières d'atmosphère contaminée, quel que soit la voie de contamination ; le plomb sera diffus d'une manière très rapide via la circulation sanguine vers les différents organes comme le cerveau, les tissus osseux, les reins et la rate.

Les tissus mous contiennent 5 à 10% du Pb totale et 90% que reste sera fixée et accumulés dans les os.

Le Pb affecte le système nerveux, les reins et le sang. Les enfants sont particulièrement sensibles et peuvent développer des troubles neurologiques tels que la diminution de l'activité motrice, l'irritabilité, le trouble du sommeil, la modification du comportement, la stagnation du développement intellectuelle, et un problème important peut entraîner des encéphalopathies aiguës.

Les effets toxiques les plus connus :

- ❖ **Effet sur le système nerveux :** l'effet neurotoxique du Pb peut se traduire par une encéphalopathie convulsive pouvant aller jusqu'au décès, pour l'intoxication massive. En cas d'intoxication moins sévère des troubles neuro-comportementaux ont été observés avec une détérioration intellectuelle.
- ❖ **Effet sur la moelle osseuse et sur le sang :** le Pb bloque plusieurs enzymes nécessaires à la synthèse de l'hémoglobine qui conduit à une diminution du nombre des globules rouges et provoque une anémie.
- ❖ **Cancer :** l'administration de fortes doses de plomb induit des cancers des reins chez de petits rongeurs. En revanche, il n'a pas été mis en évidence de surmortalité par le cancer dans les populations exposées au plomb (Jerome, 2003).

II.1.6.3. Effets toxiques du plomb sur les végétaux :

La végétation est un témoin fidèle et sensible de la qualité de l'air elle permet donc des diagnostics localisés sur les secteurs sains ou menacés (Jeu, 1988).

II.1.6.3.1. Effets toxiques du plomb sur les végétaux supérieurs :

Les plantes peuvent absorber du plomb à partir des racines, mais également à partir des organes aériens, ou bien par l'intermédiaire des deux. Les quantités de métal absorbées par les racines dépendent de la concentration et de la solubilité du métal dans la solution du sol, mais également de ses capacités de migration du sol vers des racines (Patraet *al*, 2004 ; Zheng *et al*, 2011).

La toxicité du plomb dépend de sa concentration dans le milieu, des propriétés du sol, et enfin de l'espèce végétale concernée. Les plantes mettent en place diverses barrières physiques pour se protéger. Tout d'abord le mucilage sécrété au niveau de la coiffe, qui a la capacité de lier le plomb et donc de gêner son adsorption aux parois cellulaires (Sharma et Dubey, 2005).

Globallement, le plomb affecte la croissance et la morphogénèse des plantes, en perturbant de très nombreux mécanismes physiques, en entraînant la formation des plantes de taille réduite, en diminuant la croissance des racines et des parties aériennes (Akinci *et al*, 2010 ; Zheng *et al*, 2011), en réduisant la taille des racines primaires et le nombre de racines secondaires. L'inhibition de la division et de l'élongation cellulaire sont les phénomènes les plus souvent reportés pour expliquer ces effets du plomb sur les racines (Kopittke *et al* ; 2007 ; Ghani *et al* ; 2010).

Le plomb induit rarement une mort des végétaux (Cobb *et al*, 2000) ceci démontre bien que la toxicité du plomb dépend fortement du comportement des plantes vis-à-vis de ce métal. L'ensemble des perturbations macroscopiques observées est la résultante :

- De l'interaction du plomb avec les différents composants et les macromolécules (protéines, ADN...).
- De la perturbation de nombreux processus physiologiques comme la régulation du statut hydrique, la nutrition minérale, la respiration ou la photosynthèse.

II.1.6.3.2. Effets toxiques du plomb sur les végétaux inférieure :

Les études de Bates *et al*, 1973 sur les bryophytes, ont montré qu'à une concentration de 100ppm de Pb, l'action de ce dernier se manifeste par une baisse de l'intensité respiratoire et à 50ppm par une inhibition de la germination des spores.

- **Sur les lichens :**

Les observations de Iounamaa (1956), montrent que les lichens qui vivent dans les sols riches en plomb accumulent de grandes quantités de plomb par rapport aux autres communautés lichéniques,

mais pour la première fois **Burkitt et al (1972)** observent une relation entre le *parmelia* et la distance au foyer de pollution plombique près de bristol en grand Bretagne .

Les travaux récents sur la bio indication et la bioaccumulation montrent que l'accumulation du plomb varie selon la nature des espèces, le temps d'exposition à la source de pollution, la distance par rapport à la source et enfin l'intensité de certains facteurs climatiques : le vent, la pluviométrie et humidité relative (**Cecasov et al, 2002**).

III.1. Généralité sur le fluor :

III.1.1. Présentation du fluor :

Le fluor est le treizième élément le plus abondant de la croûte terrestre. C'est un élément de la famille des halogènes. De numéro atomique $Z = 9(1s^2.2s^2.2p^5)$ et de masse atomique $M = 19 \text{ g. mol}^{-1}$ (Charlot, 1969).

Les rayons atomiques du fluor et celui de l'ion fluorure sont plus petite que celui des halogènes et halogénures. Comme pour tous les halogènes, la molécule du fluor est diatomique F_2 . Il est l'oxydant le plus fort de la famille des halogènes et même de tous les éléments simples. Le seul qui soit plus électronégatif que l'oxygène (Charlot, 1969).

Le fluor se combine directement avec tous les éléments autres que l'oxygène et l'azote, réagit vigoureusement avec la plupart des substances oxydables et des composées organiques, ce qui explique sa toxicité (Chappuis, 1991).

III.1.2. Propriétés physico-chimiques du fluor :

Le fluor est un gaz jaune ; irritant et toxique, d'une grande activité oxydante, c'est un élément chimique extrêmement réactif à cause de faible énergie de sa propre liaison (F-F)

Tableau 2 : principales propriétés physiques du fluor :(Charlot, 1969).

Point de fusion (°c)	-223
Point d'ébullition (°c)	-187
Masse atomique (g/mol)	19
Structure électronique	$1S^22S^22P^5$
Electronégativité	4.00
Rayon atomique (A°)	0.64
Rayon ionique (A°)	1.36

III.1.3. Les composés minéraux gazeux :

III.1.3.1. Le Fluor :

C'est un gaz jaune vert à la température ordinaire, il existe un seul isotope naturel : le fluor 18 utilisé en expérimentation animale est préparé dans les réacteurs nucléaires (Benhamada, 2004).

III.1.3.2. Fluorure d'hydrogène (HF) :

Appelé aussi acide fluorhydrique, c'est le composé fluoré dont la production industrielle est la plus importante, HF est très toxique et responsable d'irritation intense, brûlures graves et nécroses (œil, poutement, tractus digestif) (Benhamada, 2004).

III.1.3.3. Dérivé silicilés du fluor :

Le tétrafluorure de silicium est un gaz très toxique, polluant industriel de nombreuses industries (combustion de la houille, industrie de l'aluminium, usine de superphosphate, briqueterie, tuilerie, verrerie...), et est soluble dans l'eau en donnant de l'acide hexafluorosilicique, cette propriété est utilisée dans la dépollution industrielle de l'atmosphère (Benhamada, 2004).

III.1.3.4. Les fluorures :

III.1.3.4.1. Fluorures alcalins :

Ils sont solubles dans l'eau sauf LiF. le fluorure le plus courant, est le sel de sodium, il est responsable de la plupart des intoxications accidentelles ou volontaires par l'ion fluorure (confusion avec les composés comestibles, ingestion d'insecticide, fongicides...) (Benhamada, 2004).

III.1.3.4.2. Principaux minerais fluorés :

Le fluorapatite ($\text{Ca}_5\text{F}(\text{PO}_4)_3$) dont l'extraction annuelle est de plusieurs millions de tonnes, la cryolithe ($3\text{NaF} \cdot \text{AlF}_3$) essentielle dans l'industrie de l'aluminium, enfin la fluorapatite ($3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot \text{CaF}_2$) constituant des roches phosphatées et responsable fréquemment de fluoroses endémiques (Benhamada, 2004).

III.1.4. Composés organiques de fluor :

Ils sont extrêmement nombreux, plusieurs milliers, citons particulièrement de nombreux médicaments comportant dans leur molécule un ou plusieurs atomes de fluor en principe non métabolisables (Benhamada, 2004).

III.1.4.1. Fréons ou chlorofluorocarbones :

Ce sont des gaz ou plus rarement des liquides utilisés comme réfrigérants, solvants et jusqu'à ces dernières années comme propulseurs d'aérosols. Cette dernière utilisation devrait diminuer et même disparaître en raison des composantes des fréons sur l'ozone atmosphérique. (Benhamada, 2004).

III.1.4.2. Fluorocarbones :

Ces composés sont utilisés en thérapeutique comme transporteurs de l'oxygène à la place de l'hémoglobine (Benhamada, 2004).

III.1.4.3. Anesthésiques fluorés :

Il y en a plusieurs, mentionnons le méthoxyfluorane, responsable de néphrites toxiques avec libération d'ion fluorure (Benhamada, 2004).

III.1.5. Composés organiques naturels :

Ils sont rares, citons l'acide fluor oléique et l'acide fluor acétique retrouvés dans certaines plantes. Le fluor acétate de sodium, très toxique est utilisé comme raticide (Benhamada, 2004).

III.1.6. Source d'émission :

La pollution fluorée à l'origine le rejet dans l'atmosphère de gaz et de particules, émis ponctuellement lors de la pyrolyse fluorée, et par diverses industries, verreries, métallurgie de l'aluminium et du béryllium, fabrication d'engrais phosphatés (à partir de l'apatite fluorée), industrie cuisant de l'argile (cimenterie ; briqueteries et tuileries, fabrication de céramiques et de produits réfractaires). ces industries rejettent de fluor sous forme gazeuse et sous forme de fluorures volatils (Déruelle et Lallament, 1983).

L'origine du fluor vient alors soit de lessivage des roches magmatiques alcalines des minéraux tel que l'apatite, le topaze ou la fluorine soit de l'activité volcanique elle-même engendrant des apports gazeux fluorés tel que le HF (Chernet et al, 2001).

Toutefois, aux concentrations aériennes rencontrées habituellement en milieu urbain, le fluor demeure inoffensif.

Le fluor peut également entrer dans la composition de gommes à marcher, comprimés, gouttes et compléments alimentaires divers (Viala et Botta, 2005).

III.1.7. Effet toxique du fluor :

III.1.7.1. Effet du fluor sur l'environnement :

Le fluor peut être à l'origine d'une importante pollution atmosphérique et donc des sols dans les environs d'usines d'électrochimie de l'aluminium et autour des cimenteries.

Les produits fluorés provoquent des sérieux problème dans les systèmes biologiques. L'accumulation du fluor dans le sol provoque une pollution locale et régionale de l'environnement (Shelepova et al, 1986).

Le fluor contamine les parties aériennes des végétaux et les sols. Il contamine aussi les chaînes alimentaires des animaux domestiques via les herbages pollués causant un grave maladie, la fluorose des ongulés (Ramade, 2005).

Les chlorofluorocarbones (CFC) semblent être les composées les plus impliqués dans le phénomène de la dégradation de l'ozone « trou de zone » (Lambert, 1995).

III.1.7.2. Effet de fluor sur la santé humaine :

La toxicité des ion fluorures est de type chronique à savoir qu'elle se manifeste après des absorption répétées de quantités relativement faible. il est admis que le fluor s'accumule dans l'organisme et particulièrement dans les dents, les os et les reins. Le fluor présent dans ces derniers serait éliminé dans les urines (AFEE, 1978).

Cette accumulation au niveau des dents et des squelettes conduisant à des modifications dentaires voir les osseuses et : ou articulaires que dépendent toute fois du métabolisme des individus et la quantité totale apporter par la consommation en fluor(eau 75% à 90%). Ainsi que les autres sources d'empoisonnements tels que les substances nutritives, les drogues et les produits cosmétiques (10 à 25%) (Meenakshi et al, 2004).

La pathologie la plus important de l'élément fluor sur l'organisme humain est la fluorose osseuse (Frank, 1992), cette pathologie a été décrite en premier dans les pays industrialisés chez des ouvriers exposés à des taux de fluorures élevés sur des périodes de plusieurs années, il en résulte de graves conséquences (Cap et al, 2003).

III.1.7.3. Effet de fluor sur les animaux :

L'animal refusant au bout d'un certain temps, la nourriture qui est présenté (Chappuis, 1991). En générale, quelle que soit la nature du dérivé du fluor, on observe une calcification anormale des os et des dents, caractérisée par l'apparition, elle-meme anormale, de fluor dans la structure de ces tissus, principalement dans la partie où se trouvent des cristaux d'apatite. On constate d'abord une diminution de la production de lait, des pertes de poids, l'apparition d'une certaine raideur des membranes, l'animal se met à boiter et son pelage se durcit, ce qui aboutit à la mort de l'animal.

L'ingestion par le bétail des fourrages sur lesquels des poussières fluorées se sont déposées constitue une source de nuisance (Popescu et al, 1998).

III.1.7.4. Effet de fluor sur la végétation :

III.1.7.4.1. Effet sur les végétaux supérieurs :

Le fluor, élément qui n'intervient pas dans le métabolisme des végétaux, pénètre dans les cellules de parenchyme foliaire et transféré et stocké aux extrémités ou sur les bords de limbe .

Le fluor représente aussi un redoutable polluant pour les cultures toutes les plantes cultivées présentent une grande pollu-sensibilité à cet élément(Ramade, 2005).

III.1.7.4.2. Effet sur les lichens :

L'accumulation du fluor par les lichens est en fonction de la teneur en fluor dans l'atmosphère. Elle est liée à l'exposition, à la distance par rapport à la source de pollution. Les lichens affectés par une pollution fluorée présentent généralement une chlorose, c'est à-dire une décoloration du thalle, suivie d'une nécrose. Les émissions fluorées provoquent des chloroses et des nécroses sur les thalles des lichens, mais leur localisation et leurs couleurs semblent varier selon les espèces : des nécroses centrales pour *Xanthoria parietina*, marginales pour *Parmelia caperata* de couleur rose pour *Parmelia saxatilis* et *Parmelia sulcata*.

Des études réalisées par Beladria (1986), ont montré que chez certaines espèces lichéniques, l'inhibition de la germination des spores se fait à une concentration en NaF de 2000 μmol alors qu'il suffit 50 μmol pour une inhibition de cette germination (Semadi, 1989).

La pollution fluorée peut provoquer une disparition presque totale de certaines espèces lichéniques (Zaafour, 1992).

IV.1. Matériel végétal

L'objectif de notre travail est la détermination l'impact toxique du plomb et du fluor sur l'espèce lichénéque : *Xanthoria parietina*.

IV.2. Zone d'échantillonnage

Les prélèvements d'espèce du lichen étudié ont été effectués dans une station localisée à la wilaya de Jijel,

Espèce *Xanthoria parietina* a été échantillonnée dans la «région de Jimar» qui situé à la commune de chekfa, cette dernière se trouve à 23km à l'Est de la ville de Jijel se situe dans la partie Nord-Est d'Alger.



Figure13: Carte de Jimar (Google Earth).

IV.3. Prélèvement

Les thalles ont été prélevés à l'aide d'un couteau, les échantillons sont placés dans des sachets en plastique, fermé par des élastiques jusqu'à l'arrivée au laboratoire.

IV.4. Description de l'espèce :

Xanthoria parietina : est un lichen de grand de taille, dont le diamètre des thalles individuels dépasse rarement huit centimètres, mais peut exceptionnellement atteindre une quinzaine de centimètres.

Xanthoria parietina, est une espèce corticole, coniophile, très nitrophile et moyennement toxicotolérante, facilement reconnaissable à son thalle foliacé, jaune-orangé, pourvu de nombreuses fructifications.

Par ces caractéristiques, elle répond aux besoins de notre étude. C'est une espèce très répandue dans notre région, facile à échantillonner, résistante et physiologiquement active (Béguinot, 2010).



Figure 14: *Xanthoria parietina* (site de prélèvement Djimar).

➤ Classification :

Règne	Division	Classe	Ordre	Famille	Genre	Espèce
↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
Fungi	Ascomycète	Lecanoromycetes	Téloschistales	Téloschistaceae	<i>Xanthoria</i>	<i>X. parietina</i>

IV.5. Traitement des échantillons par les polluants

Après échantillonnage les lichens sont bien nettoyés et rincer par l'eau distillée.

2g du lichen sont rajoutés à 50 ml de la solution du traitement pbN_2O_6 et NaF avec les concentrations suivantes : 0mM (l'eau distillée), 0.5mM, 1mM, 5mM, 10mM (Carreras et pignata, 2007).

Ces solutions sont ensuite incubées pendant 30minutes à l'obscurité. Elles sont par la suite filtrées et rincées trois fois durant 5s par l'eau distillée.

Les lichens traités sont conservés pour effectuer Les différents dosages des paramètres suivants réalisés après 0, 24,48 et 96 h du traitement.

IV.6. Techniques de dosages

IV.6.1. Dosage du plomb par SAA :

Après séchage des lichens à 90°C pendant 12h, ils sont soigneusement broyés, à 100 mg de la matière sèche après broyage ajouter 2ml d'acide nitrique et 1ml peroxyde d'hydrogène. Incuber à 90°C pendant 48h à l'étuve puis ont complété le volume à 10 ml par l'eau distillée et enfin, filtrer et mesurer par SAA (Backor et al, 2009).

La courbe d'étalonnage a été effectuée par différentes concentrations du plomb en mg/ml : 0.5, 1, 2, 5, 10 et 20.

Les résultats sont exprimés par $\mu\text{g/g}$ du lichen en utilisant une équation qui a été obtenu à partir de la courbe d'étalonnage du plomb et en se basant sur la prise d'essais.

$$\text{Abs}=0,00880924x \quad r=0.9997$$

IV.6.2. Dosage de polyphénols et de flavonoïdes :

- Préparation de l'extrait :

La technique de l'extraction et celle par macération qui consiste à mettre 3g du lichen dans 10ml de méthanol à 10% pendant 24h, puis filtration et récupération du filtra dans 5ml de méthanol. (Behera et al, 2006).

IV.6.2.1. Dosage de Polyphénols :

Le dosage des polyphénols est déterminée selon la méthode de Slinkard and Singleton (1997). À 1ml de l'extrait ajouter 1ml du réactif de folin -ciocalten (1/10), après 5min ajouter 1 ml de Na_2CO_3 (2%). Incuber 2h à la température ambiante à l'abri de lumière, la lecture a été effectuée à 760nm (Behera et al, 2006). La courbe d'étalonnage a été effectuée par différentes concentration de l'acide gallique en mg/ml : 0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25. A partir de l'équation : $Y=6.574X$. on peut déterminer la valeur de X, donc : $X = Y/6.574$ (Y= Densité optique). Les résultats sont exprimés par $\mu\text{g/g}$ du lichen en se basant sur la prise d'essais (figure1, annexe).

IV.6.2.2. Dosage de flavonoïdes :

Afin de caractériser les extraits préparés à partir des lichens, un dosage des flavonoïdes a été effectué selon la méthode de (Meda et al, 2005).

2ml de l'extrait sont ajouté à 1ml de la solution méthanolique d' $AlCl_3$ (2%), après 10min d'incubation à la température ambiante, l'absorbance du mélange est lue à 415nm. La courbe d'étalonnage a été établie par différentes concentrations de quercetine en mg/ml : 0, 0.02, 0.04, 0.06 et 0.08. à partir de l'équation suivante : $Y=31.68X$. on peut déterminer la valeur de X, donc : $X=Y /31.68$ (Y= Densité optique). les résultats sont exprimés par $\mu\text{g/g}$ du lichen en se basant sur la prise d'essais (figure2, annexe).

IV.6.3. Dosage des sucres solubles :

Selon la méthode de Dubois et al, 1956. Mettre 100mg du lichen à matière fraîche dans des tubes à essai puis ajouté 3 ml d'éthanol à 85 %, Le tout est laissé au repos à l'obscurité et à la température ambiante pendant 48h, filtrer et ajouter 20 ml d'eau distillée. Prélever 1ml de la solution et ajouter 1ml de phénol à 5% et 5 ml d'acide sulfurique à 1.8 N. Incuber à 15- 20min au bain marie 30°C , Puis procéder à la lecture au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 490 nm.

Le calcul se fait à partir de l'équation déduite de la gamme d'étalonnage : $Y=0.7312X+ 0.001$.

La courbe d'étalonnage est établie par solution de glucose 250mg dans 1ml de H₂O. Les résultats sont exprimés par µg/g du lichen en se basant sur la prise d'essais (**figure3, annexe**).

IV.6.4. Dosage des acides aminés par HPLC:

Le dosage des acides aminés a été effectué selon la méthode de **Dahlman et al. (2003)** pour l'extraction des acides aminés, On met 1g du lichen (matière fraîche) dans 10ml d'HCl à 10mM pendant 1h, après la filtration on récupère le filtrat pour l'utiliser à HPLC.

Les standards utilisés pour la détection des acides aminés sont : tryptophane, méthionine, tyrosine, proline, cystéine, glycine, phénylalanine à 1mg/ml (**Gaio-oliveira, 2005**).

IV.6.5. Dosage de peroxyde d'hydrogène :

La concentration du H₂O₂ a été déterminée selon la méthode de (**Sagisaca, 1976**) Approximativement 1g de lichen à matière fraîche a été homogénéisé avec 2ml d'acide trichloracétique(TCA) à 5%. L'homogénat obtenu a été centrifugé à 14000g pendant 20 minutes à 0 °C. À 1.6 ml de surnageant a été ajouté à 0.4ml de TCA (50%) et 0.4ml de sulfate d'ammonium ferreux à 1% et 0.2 ml de Thio cyanate de potassium à 1%. La teneur de H₂O₂ dans le surnageant a été évaluée par mesure de la densité optique à 480 nm. (**Panda, 2007**).

La courbe d'étalonnage a été établie par différentes concentrations de H₂O₂ en mM : 0.5, 1, 2.5, 5, 10 et 20. Les résultats ont été exprimés par mmol/g du lichen en utilisant l'équation qui a été obtenu à partir de la courbe d'étalonnage de H₂O₂ en se basant sur la prise d'essais (**Figure 4, annexe**).

IV.6.6. Dosage de GSH :

Les thalles lichéniques ont été homogénéisés dans le tampon phosphate 50mM, (pH 6.5) et centrifugés à 4°C 12000g pendant 15mn.

Le dosage du GSH est basé sur la méthode colorimétrique **d'Ellman (1959)**. Le principe est basé sur la réaction d'oxydation du GSH par l'acide 5, 5'- Dithiobis 2-nitrobenzoïque (DTNB) libérant ainsi l'acide thionitrobenzoïque (TNB) absorbant à 412 nm, selon la réaction Suivante (**figure15**).

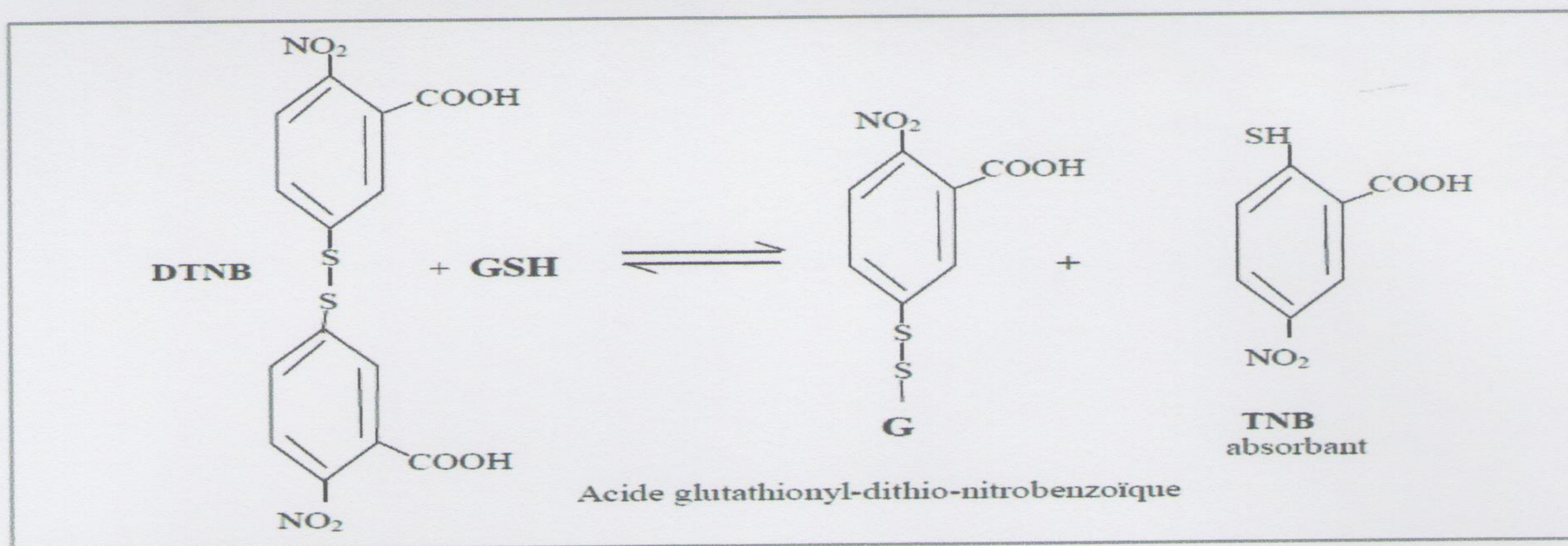


Figure 15: principe de dosage de **GSH** (Griffith, 1980).

Pour ce dosage on met 100 μ l de l'extrait puis on ajoute 1200 μ l de la solution de DTNB.

L'absorbance est lue à 412 nm. .

Les teneurs en GSH sont déduites à partir d'une gamme étalon établie dans les mêmes conditions avec le glutathion (Griffith, 1980). Les résultats sont exprimés par mmol/g du lichen en utilisant l'équation obtenu à partir de la courbe d'étalonnage de glutathion et en se basant sur la prise d'essais (figure 5, Annexe).

IV.7. L'étude statistique :

On a effectué trois répétitions dans chaque concentration pour qu'on puisse calculer l'écart type

L'étude statistique est réalisée à l'aide du système INSTAT2 MS-DOS en utilisant le test de variance uni varié (one-way ANOVA).

Pour l'étude expérimentale sur les lichens, les résultats sont exprimés en moyenne \pm SD et nous comparons les différentes valeurs obtenues en fonction des concentrations des polluants.

Ce test nous donne le degré de signification P ou on dit que la différence :

- N'est pas significative si $P > 0.05$ (NS).
- Est significative si $0.05 > P > 0.01$ (*).
- Est hautement significative si $0.05 > P > 0.001$ (**).
- Est très hautement significative si $P < 0.001$ (***).

V.1. Résultats

V.1.1. Résultats de dosage du plomb:

Les résultats obtenus du dosage du plomb chez le lichen *Xanthoria parietina* soumis à des concentrations de $Pb_2(NO_3)_2$ à 0mM, 0,5mM, 1mM, 5mM et 10mM sont illustrés dans la figure 16 :

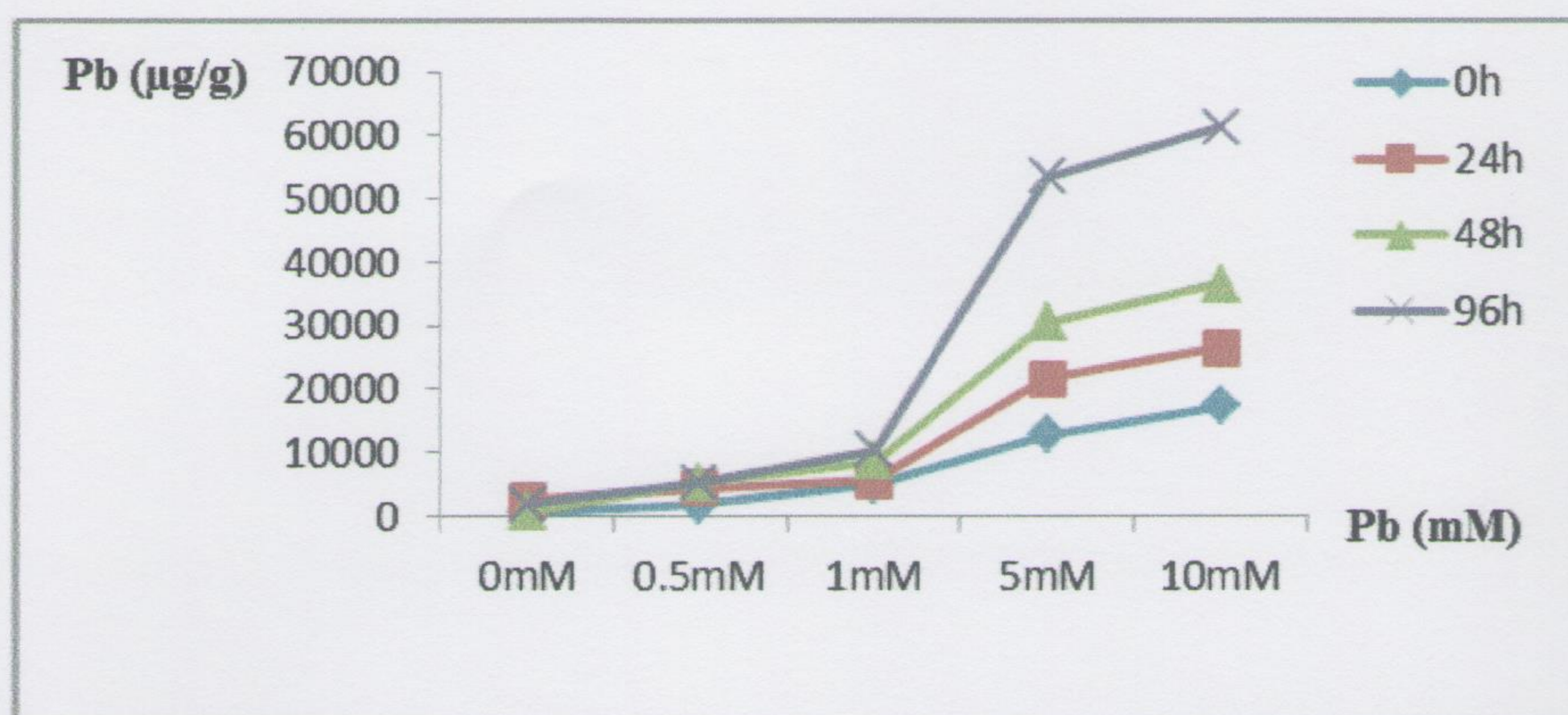


Figure 16: Variation des teneurs en plomb chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par différentes concentrations du plomb.

D'après la **figure 16** on observe que la teneur en plomb chez le lichen augmente en fonction du temps, de même elle augmente avec les différentes concentrations du Pb.

Les résultats obtenus montrent que l'accumulation du plomb est hautement significative ($p=0.00176^{**}$). La plus importante augmentation du plomb a été détectée chez les lichens traités par la concentration 10mM après 96 h du traitement.

V.1.2. Résultats de dosage de polyphénols :

Les résultats de dosage de polyphénols dans le thalle du lichen traité par les solutions de $Pb_2(NO_3)_2$ et de NaF pendant une période déterminée, sont indiqués respectivement dans les figures 17 et 18 :

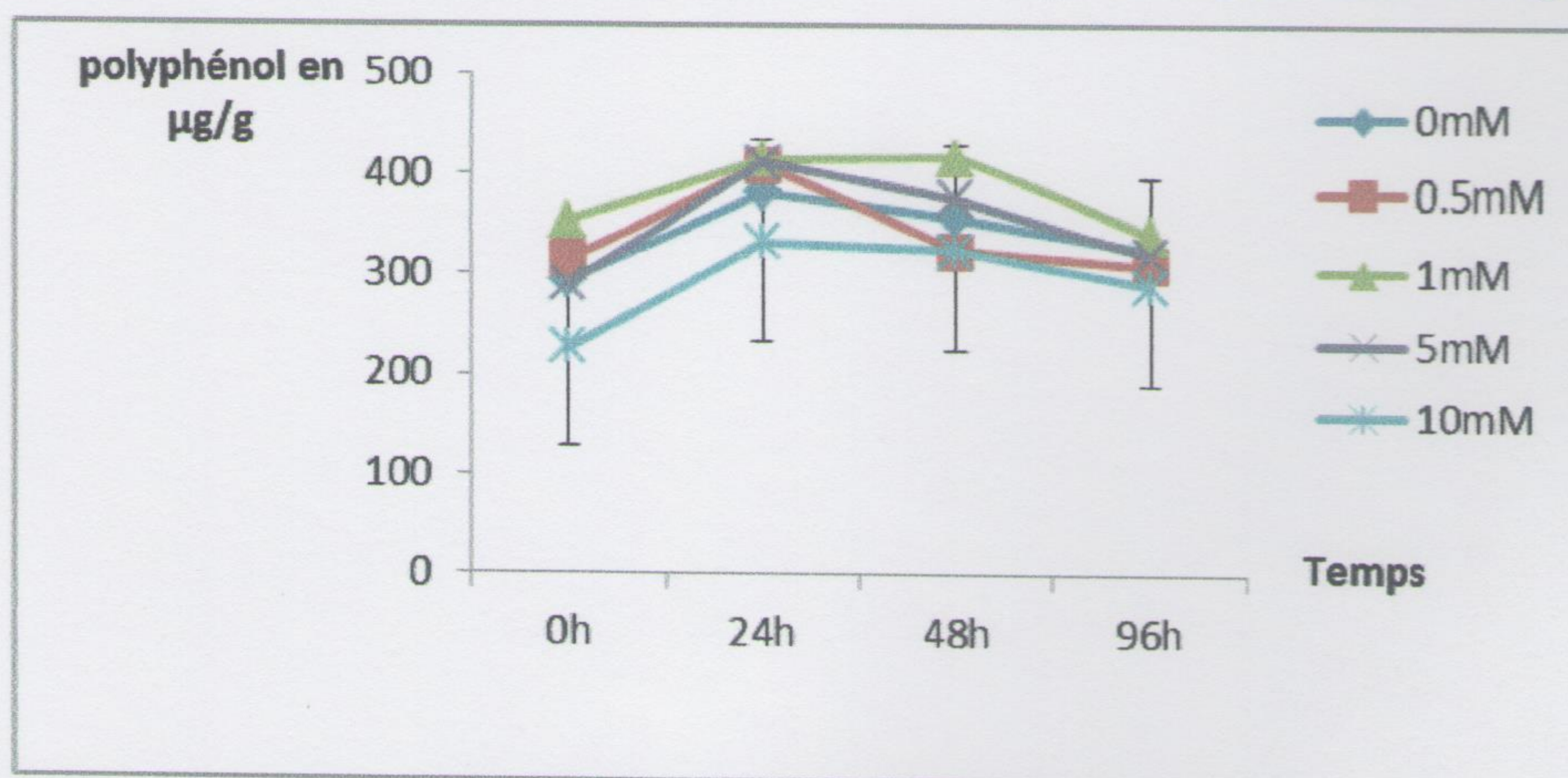


Figure 17 : Variation des teneurs en polyphénol chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par différentes concentration du plomb

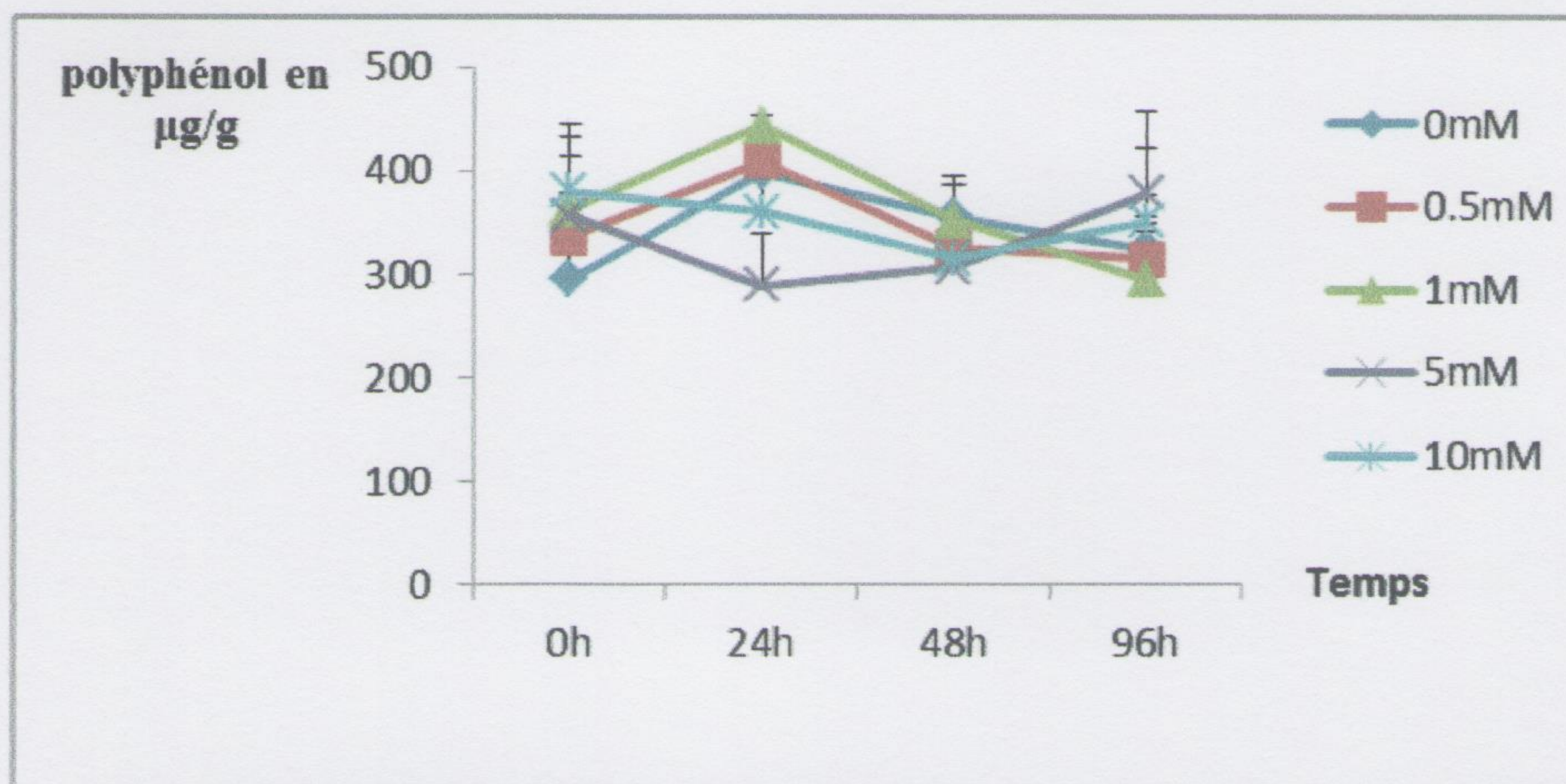


Figure 18: Variations des teneurs en polyphénols chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par différentes concentrations du fluor

D'après les figures(17,18) on a remarqué une accumulation des teneurs en polyphénols en fonction du temps chez l'espèce étudiée traité par les différentes concentrations du plomb et du fluor.

Chez les thalles traités par le plomb, on a remarqué que les teneurs accumulées de polyphénols ont été dégradées au-delà de 24h du traitement.

V.1.3.Résultat du dosage des flavonoïdes :

Les résultats du dosage de flavonoïdes dans le thalle du lichen traité par différentes concentrations des solutions de $Pb(NO_3)_2$ et de NaF pendant une période déterminée, sont indiqués respectivement dans les figures suivantes :

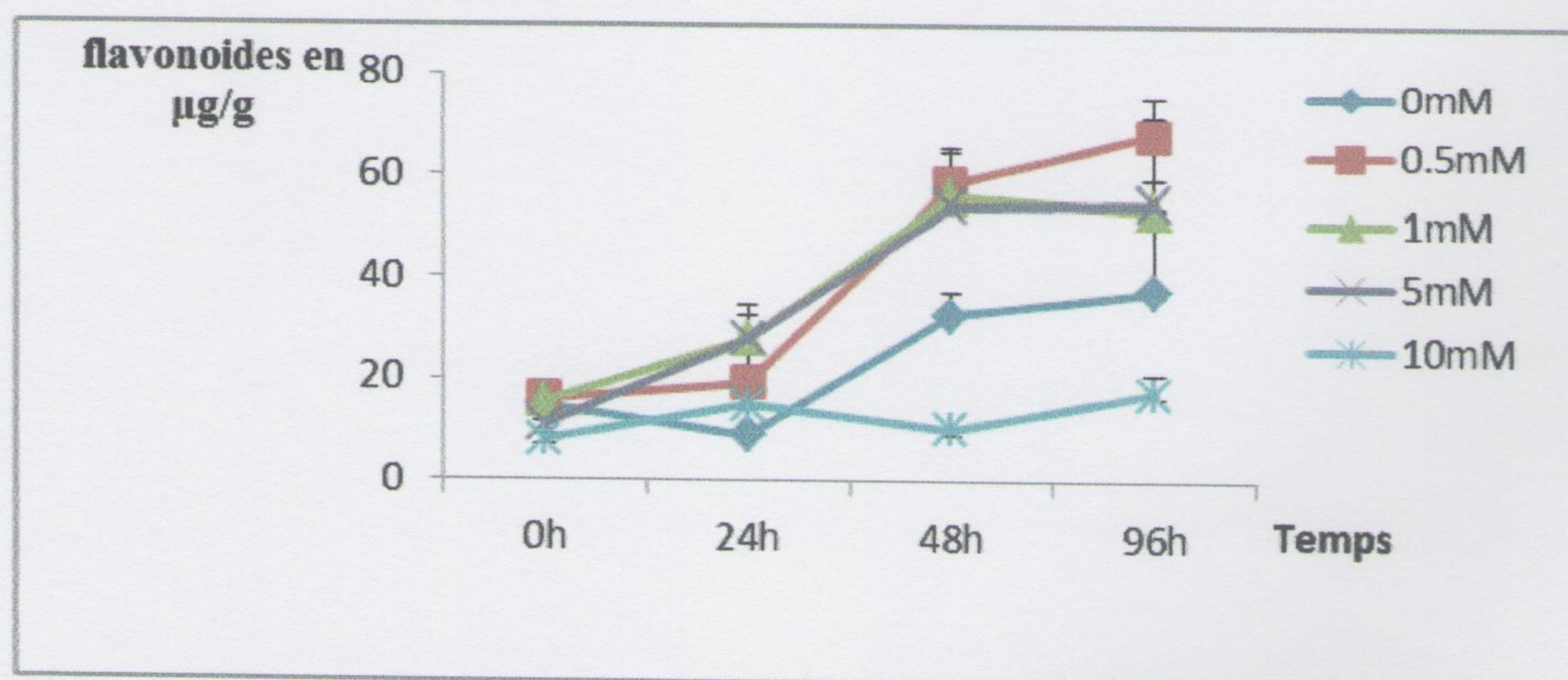


Figure 19: Variation des teneurs en flavonoïdes chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par différentes concentration du plomb.

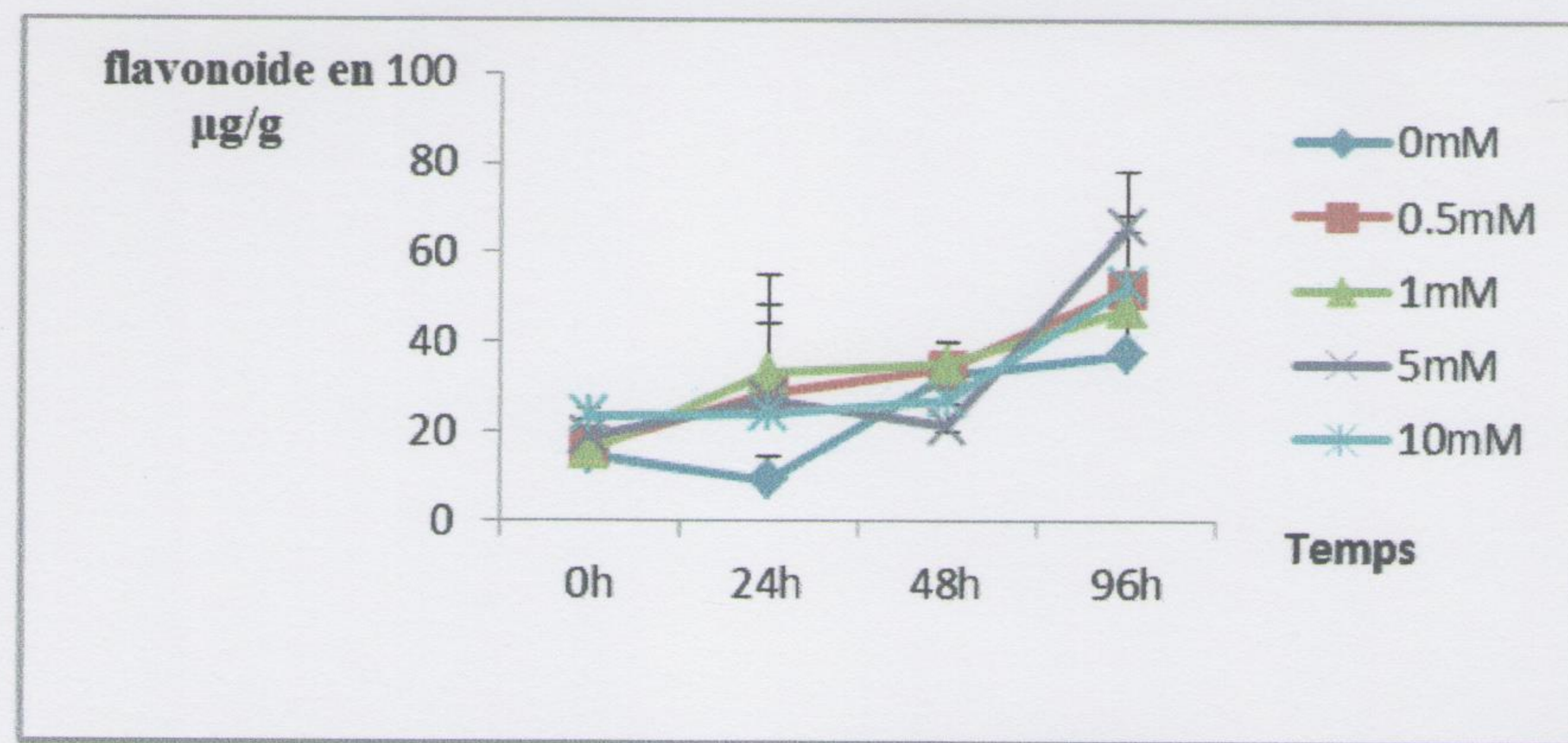


Figure 20 : Variation des teneurs en flavonoïdes chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par différentes concentrations du fluor.

La lecture de ces deux figures (19, 20) montre que les deux polluants plomb et fluor provoquent une augmentation importante des teneurs en flavonoïdes chez les thalles traités par les différentes concentrations du plomb et du fluor.

V.1.4. Résultat du dosage des sucres solubles :

Les différents résultats enregistrés relatifs aux taux des sucres solubles dans l'espèce étudiée sont illustrés aux figures (21 et 22).

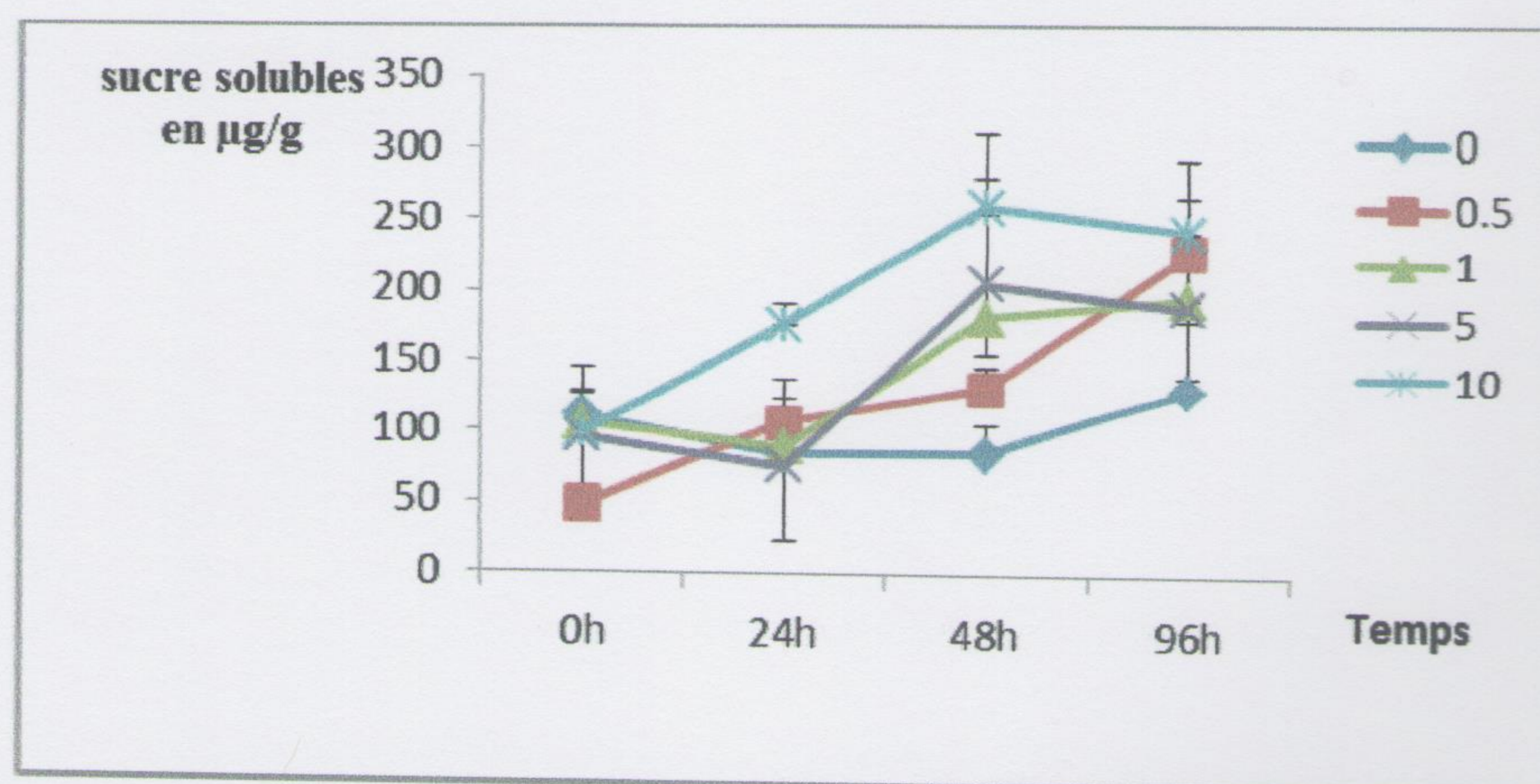


Figure 21: variation des teneurs des sucres solubles chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par différentes concentrations du plomb.

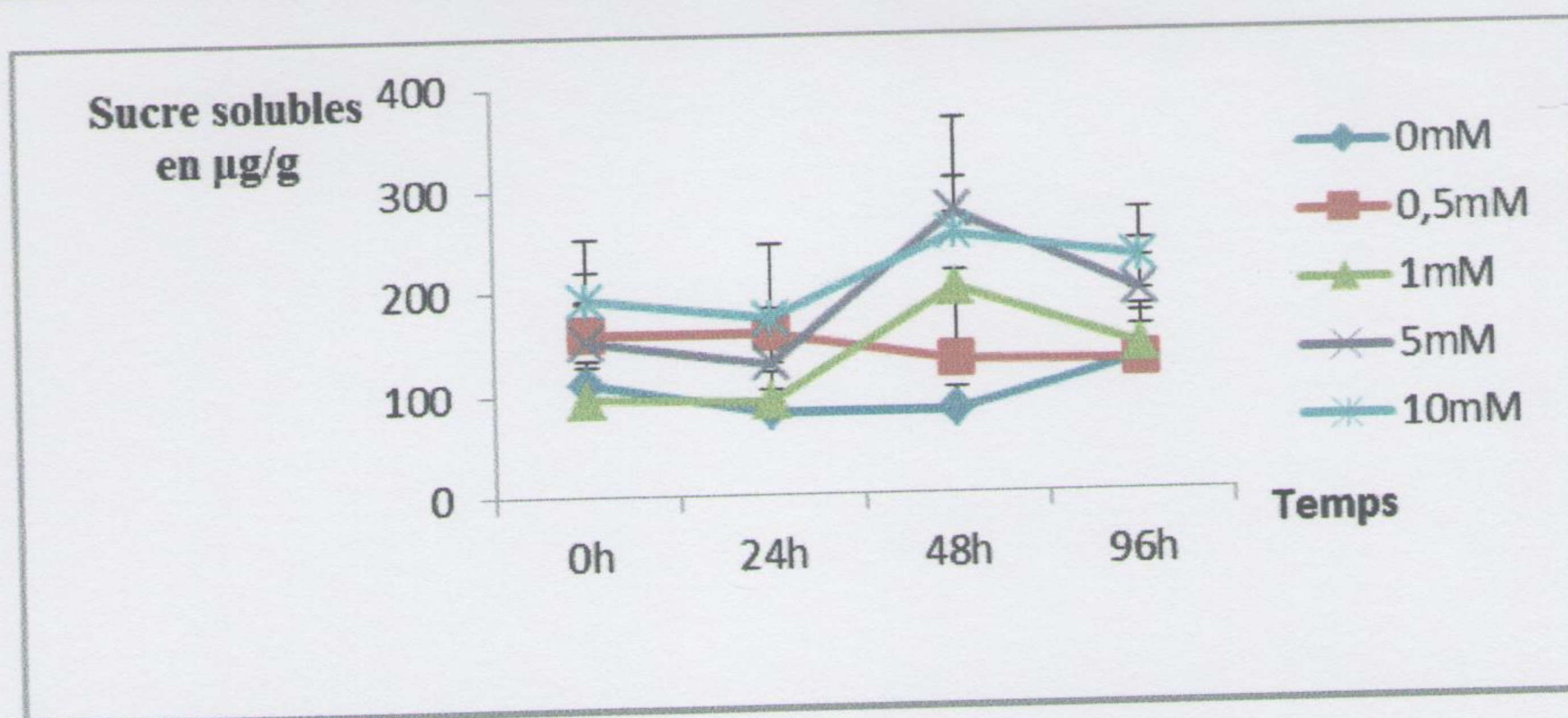


Figure 22 : Variation des teneurs en sucres solubles chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par différentes concentrations du fluor.

D'après les résultats, Les teneurs en sucres augmentent d'une façon générale chez les thalles traité par les différentes concentrations du plomb et du fluor mais, ces teneurs diminuent légèrement après 96h du traitement par le plomb avec les concentration 5mM et 10mM et avec toutes les concentrations (0.5mM, 1mM, 5mM, 10mM) du fluor.

V.1.5. Résultats de dosage des acides aminés :

Les résultats obtenus du dosage des acides aminés sont rassemblé dans le tableau 3, sachant que l'HPLC des standards est représentée dans les graphes suivants:

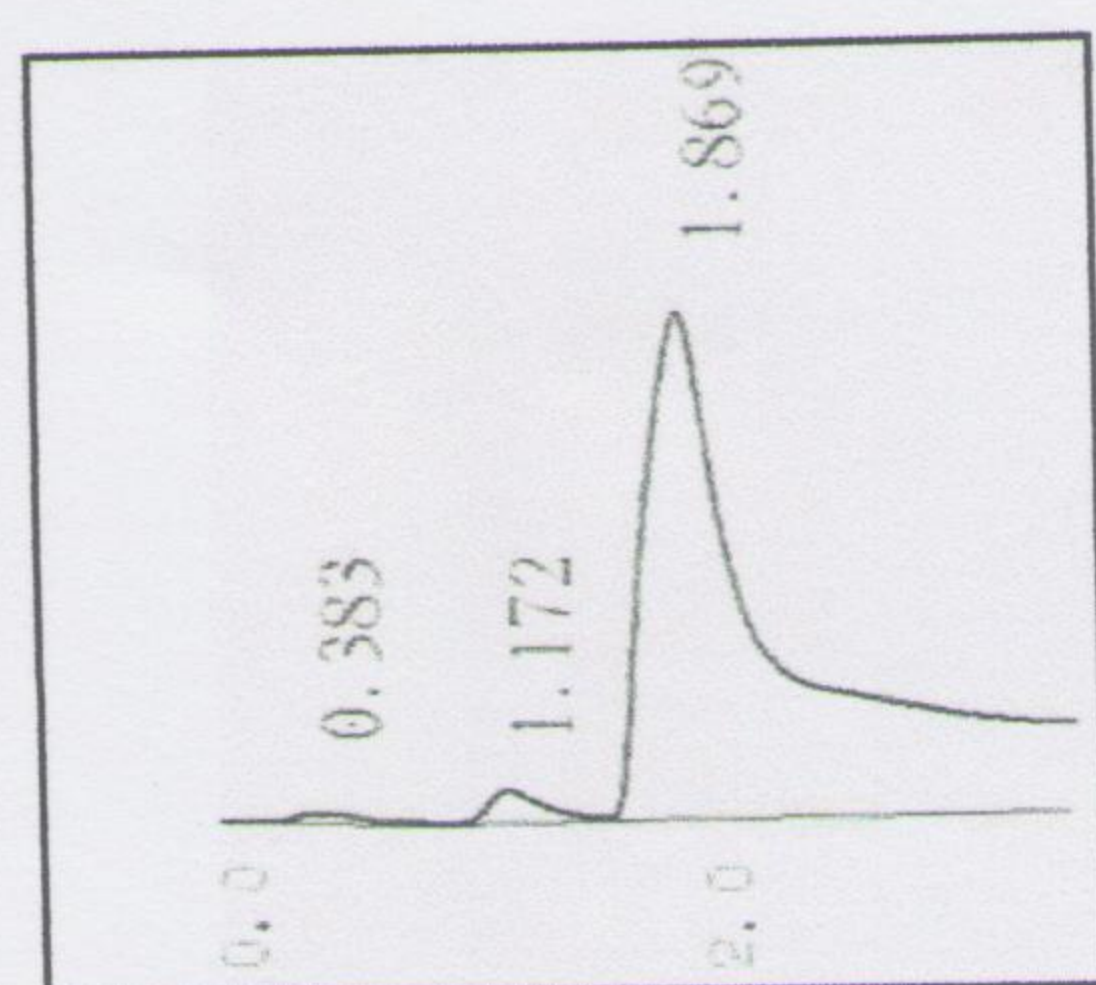


Figure23 : Chromatogramme d'HPLC par l'acide Aminé tyrosine avec le temps de rétention 1.869.

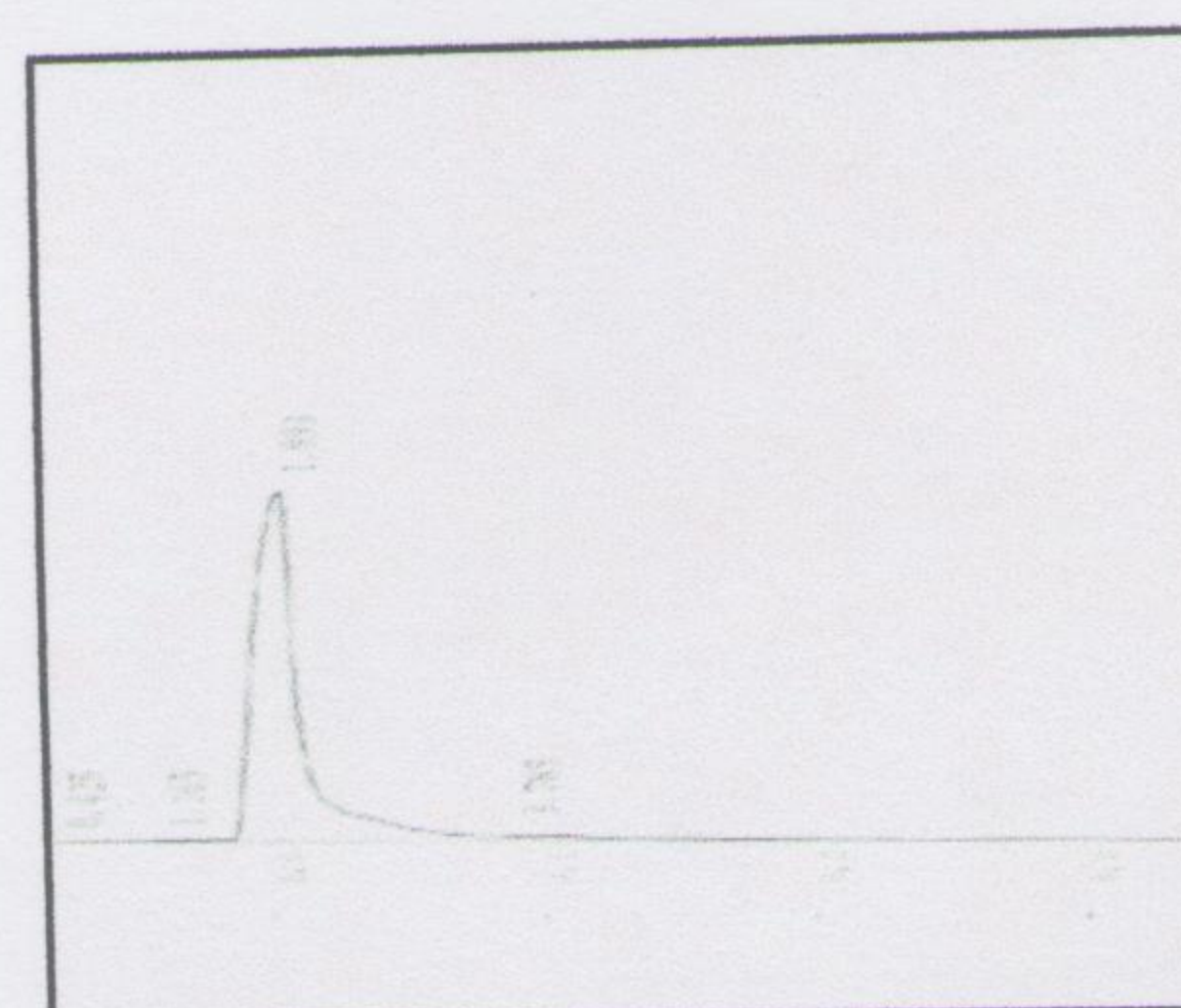


Figure24 : Chromatogramme d'HPLC par l'acide Aminé tryptophane avec le temps de rétention 1.861

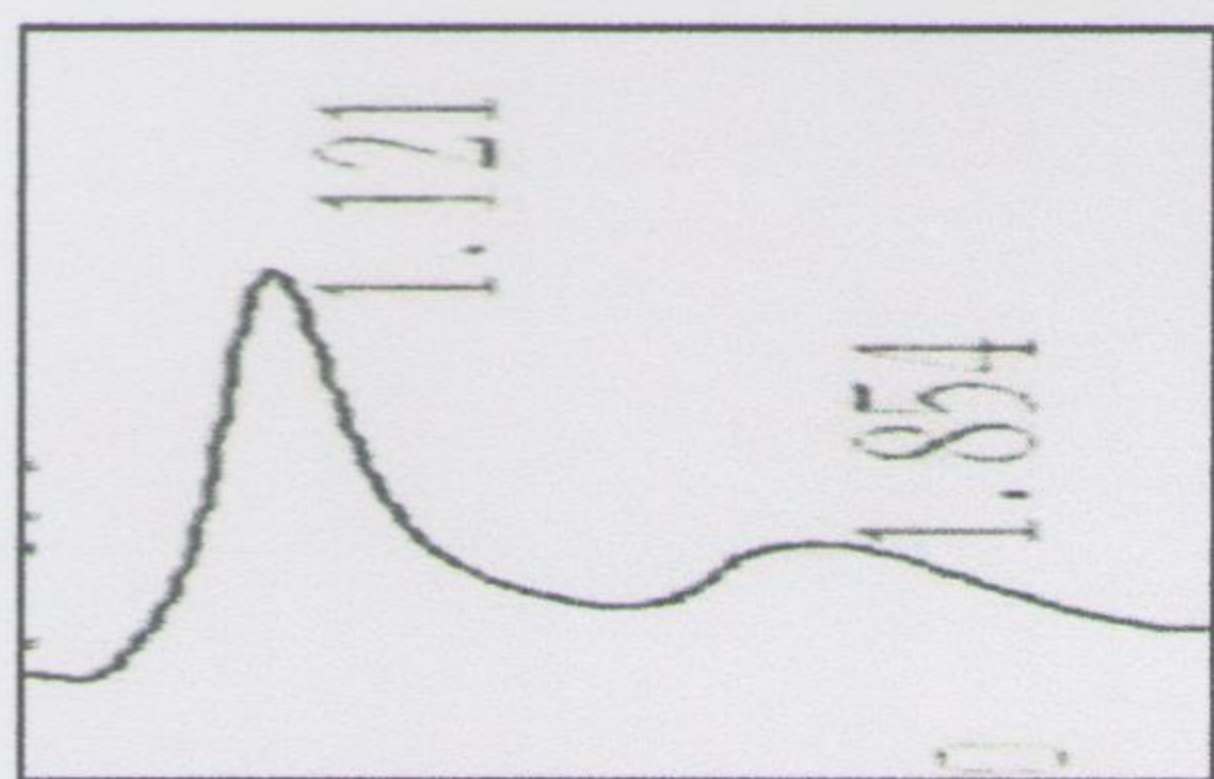


Figure25 : Chromatogramme d'HPLC par l'acide Aminé Glycine avec le temps de rétention 1.121.

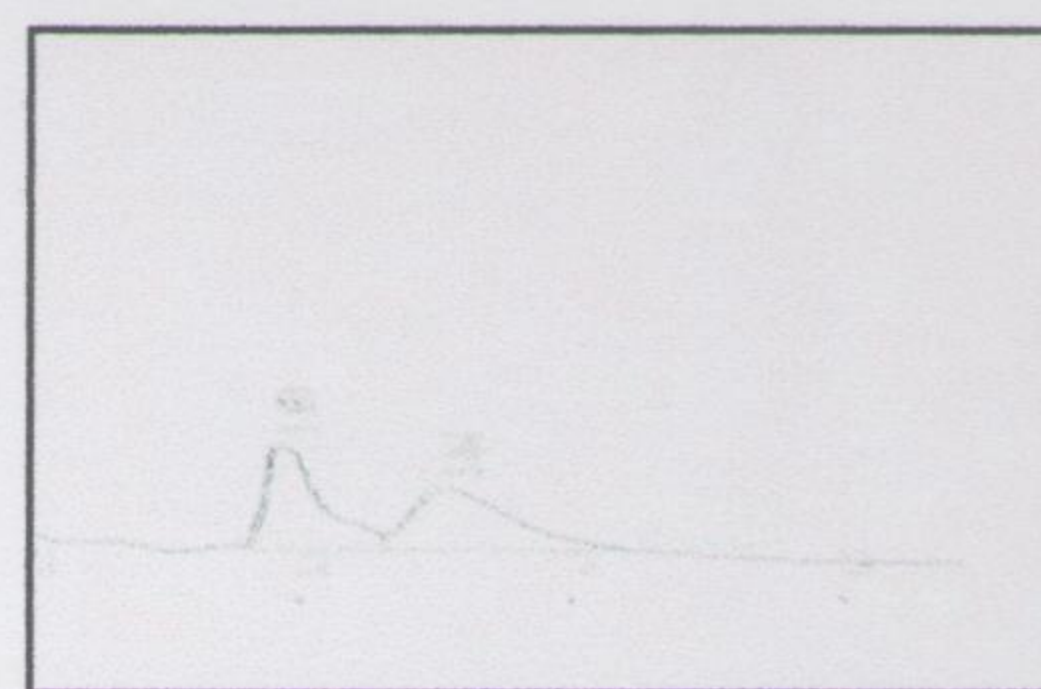


Figure26 : Chromatogramme d'HPLC par l'acide Aminé Méthionine avec le temps de rétention 1.850.



Figure27 : Chromatogramme d'HPLC par l'acide Aminé Phénylalanine avec le temps de rétention 1.834.

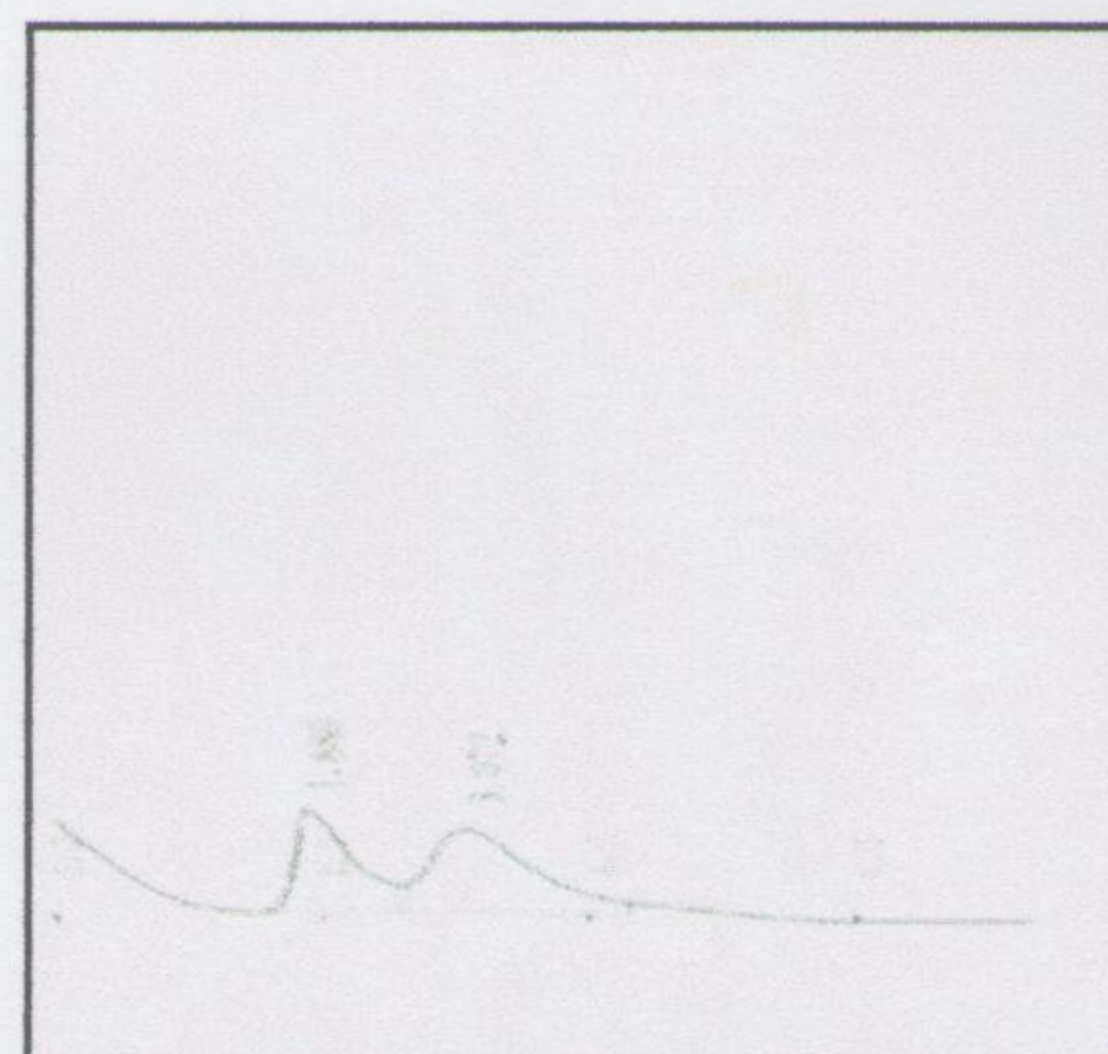


Figure28 : Chromatogramme d'HPLC par l'acide Aminé proline avec le temps de rétention 1.893.

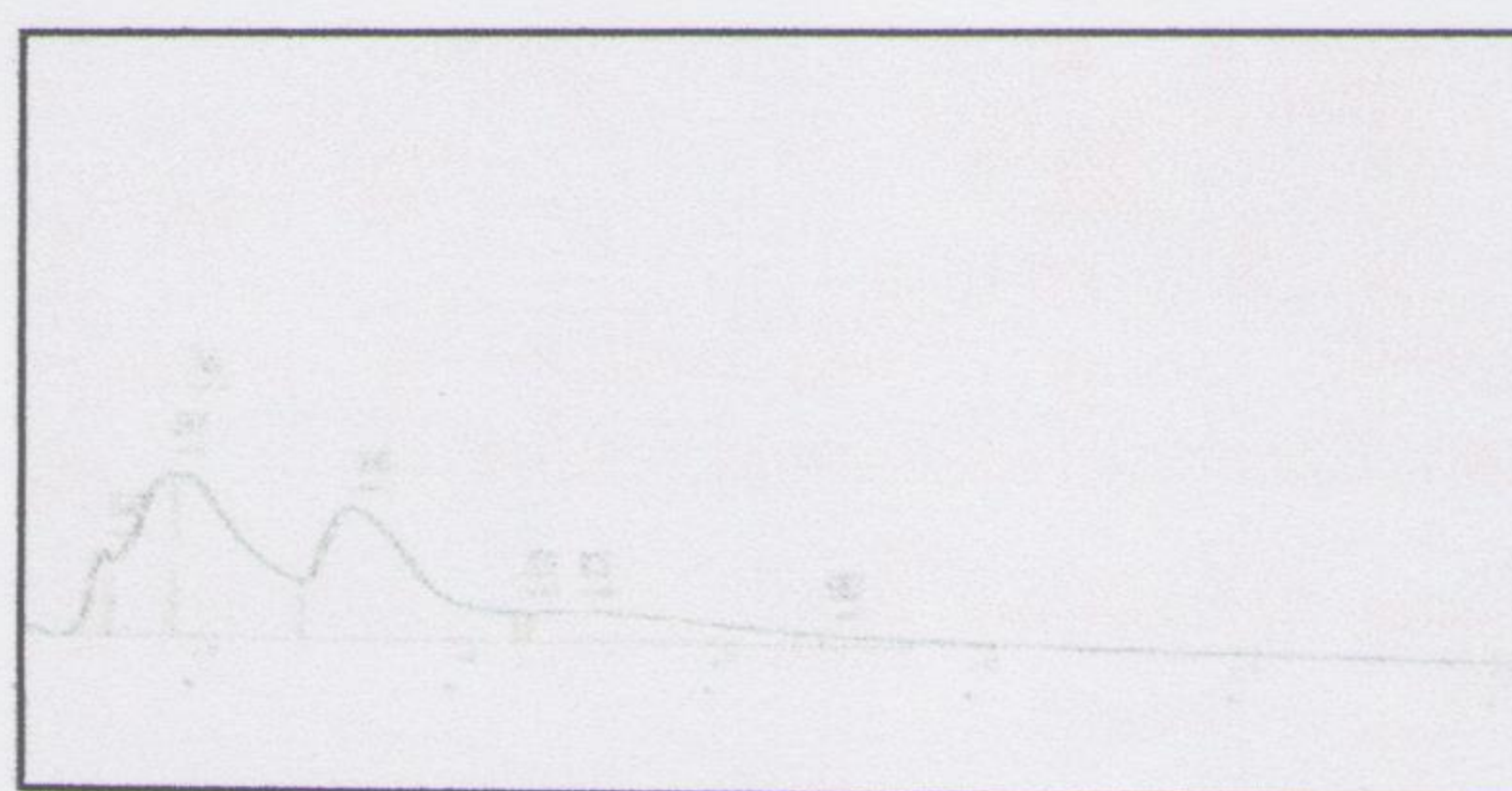


Figure29 : Chromatogramme d'HPLC par l'acide aminé cystéine avec le temps de rétention 1.897.

Tableaux 3 : Effet du plomb et du fluor sur les acides aminés chez le lichen *Xanthoria parietina*

temps	Acide aminé	0mM	0.5mM	1mM	5mM	10mM
0h	tyrosine	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	tryptophane	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

	glycine	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	méthionine	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	phénylalanine	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	proline	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	cystéine	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
96h	tyrosine	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	tryptophane	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	glycine	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	méthionine	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	phénylalanine	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	proline	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)
	cystéine	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

(+) présence des acides aminés, (-) absence des acides aminés

NB : les mêmes résultats obtenus par le plomb et le fluor.

Les résultats obtenus montrent que le plomb et le fluor provoquent une dégradation des 6 acides aminés (Gly, Cys, Met, Tyr, Phy, Try), et une accumulation de la proline après 96h du traitement par 1, 5 et 10 mM du plomb et du fluor.

V.1.6. Résultats du dosage de H₂O₂ :

Les variations de la teneur en H₂O₂ chez *Xanthoria parietina* après traitement Par le plomb et le fluor sont présentées par les figures suivantes :

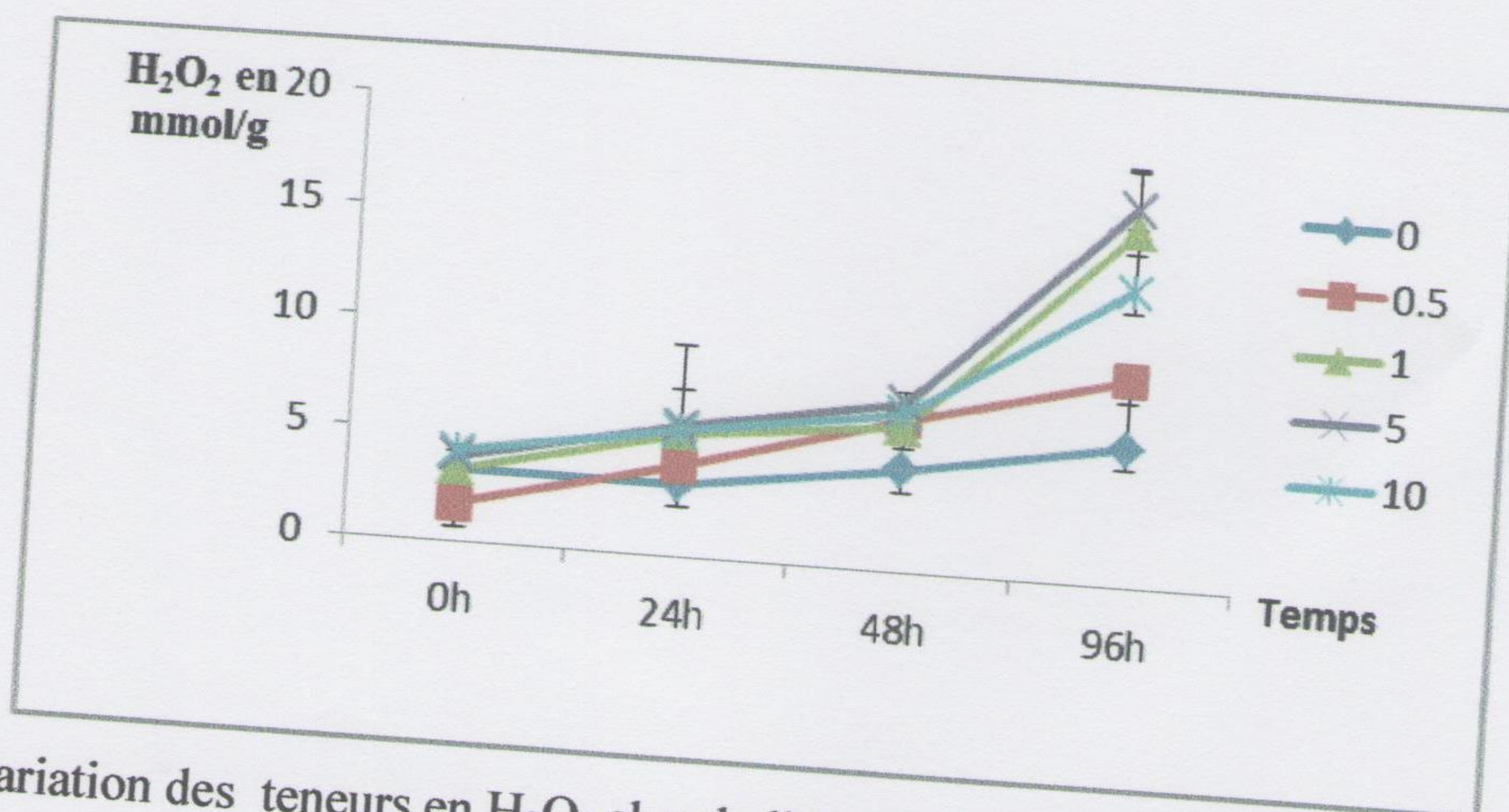


Figure 30: variation des teneurs en H₂O₂ chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par différentes concentrations du plomb.

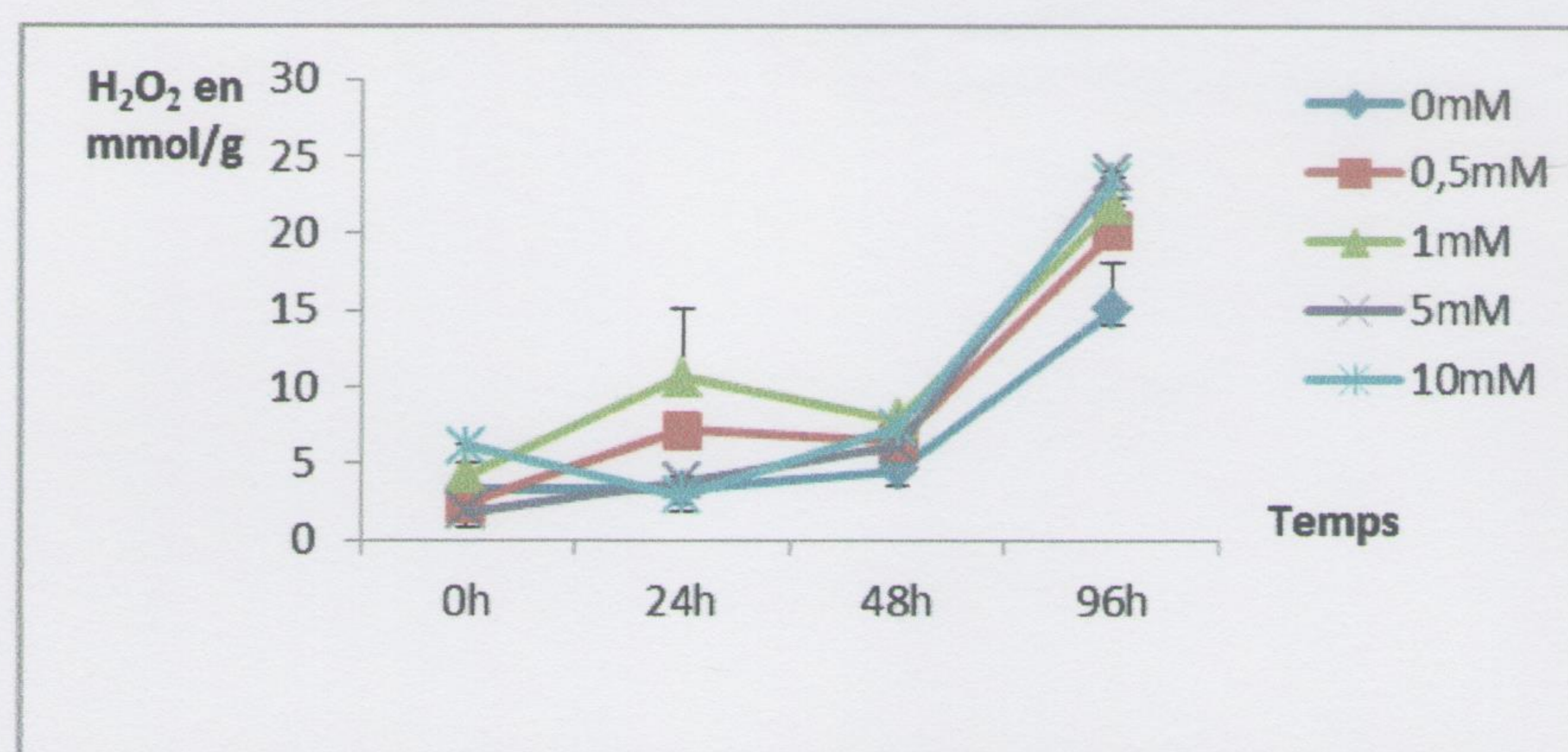


Figure 31: Variation des teneurs en H_2O_2 chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par différentes concentrations du fluor.

Chez *Xanthoria parietina* la teneur en H_2O_2 augmente en fonction du temps ainsi qu'en fonction des différentes concentrations du plomb et du fluor. Chez les thalles traités par le plomb on a remarqué que les faibles concentrations (0.5mM) ont un effet négligeable et semblable avec le témoin sur l'accumulation de H_2O_2 . Par contre les autres concentrations (1mM, 5mM, 10mM) provoquent une augmentation importante de H_2O_2 .

Au contraire du plomb, le fluor provoque une augmentation importante de H_2O_2 après 96h du traitement avec les différentes concentrations, alors que l'augmentation de H_2O_2 reste négligeable après 24h et 48h du traitement avec les différentes concentrations.

V.1.7. Résultat de dosage de GSH :

L'effet du plomb et du fluor sur la teneur en glutathion chez l'espèce étudiée est illustré dans les figures suivantes :

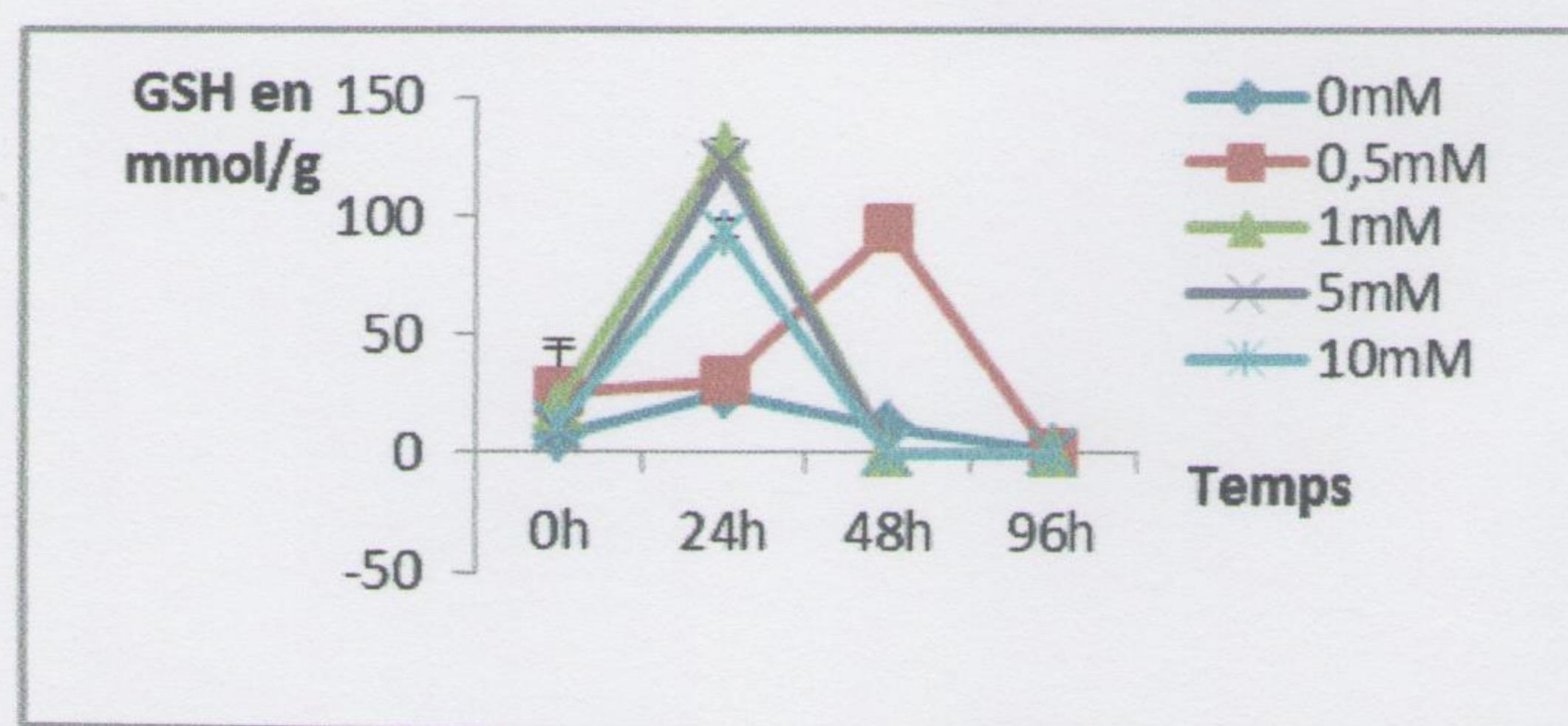


Figure 32: Variation des teneurs en GSH chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par différentes concentrations du plomb.

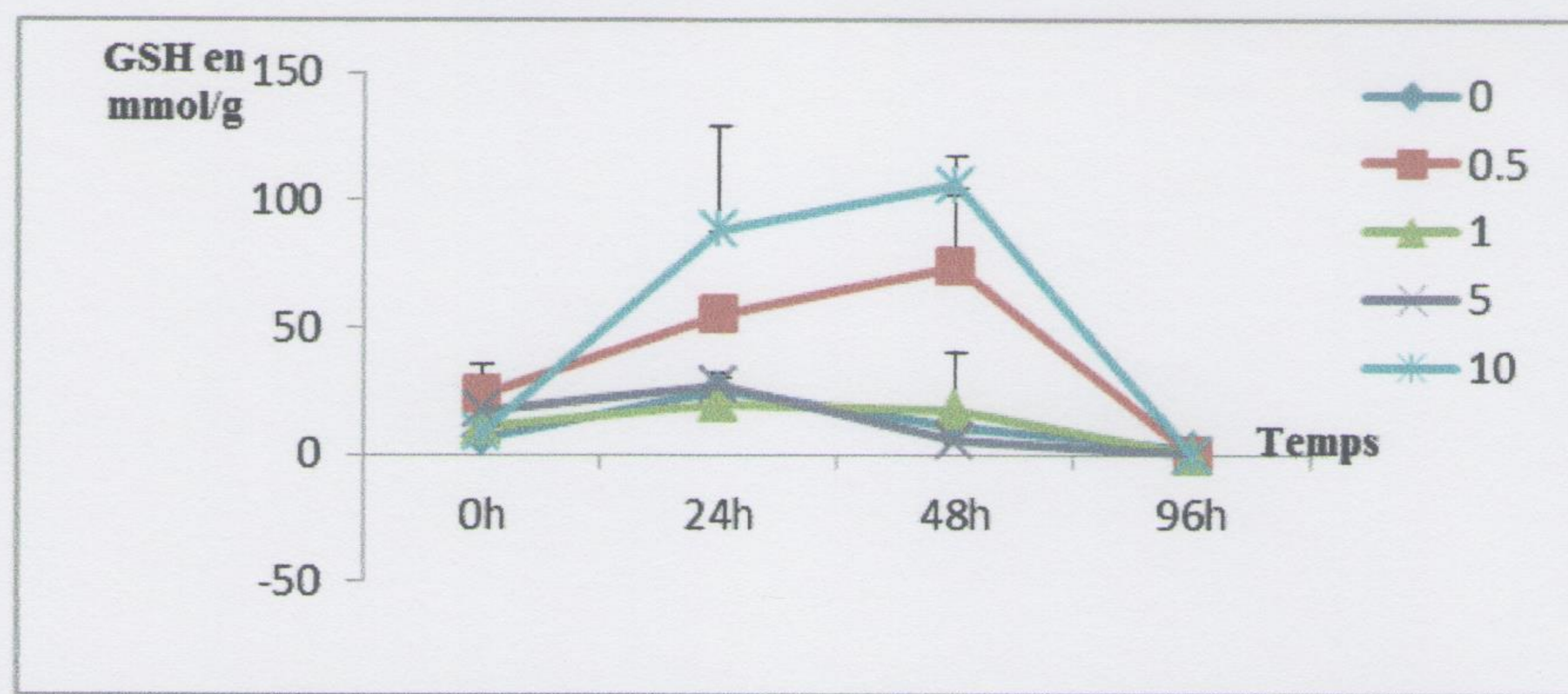


Figure 33 : Variation des teneurs en GSH chez le lichen *Xanthoria parietina* traité par différentes concentrations du fluor.

D'après les résultats on a remarqué une augmentation très importante du glutathion après 24h de traitement par les concentrations (1 mM, 5mMet 10 mM) du plomb.

Ces teneurs tombent directement à zéro après 48h du traitement par 1, 5 et 10mM du plomb, et après 96h du traitement par les différentes concentrations du fluor.

V.2. Discussion générale :

Cette présente étude montre le rôle important que joue le système de défense de *Xanthoria parietina* dans l'accumulation et la tolérance aux polluants. Cette étude a été abordée par la recherche des marqueurs biochimiques (sucres solubles, polyphénols, flavonoïdes) et des indicateurs de stress éventuellement à la réponse antioxydant (H₂O₂, GSH).

- **L'augmentation du taux de plomb chez *Xanthoria parietina* :**

Le plomb est un toxique cumulatif, dont les signes de toxicité peuvent être retardés par rapport à l'exposition (Geraud, 2007).

Les résultats obtenus montrent que le lichen étudié est capable d'accumuler le plomb, ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus par Bergamaschi et al (2007) qui rapportent que l'accumulation des polluants s'effectue en trois étapes :

1. Les polluants se déposent sur les surfaces des thalles.
2. Accumulation des polluants dans les espaces intercellulaires.
3. Les polluants se lient sur les parois cellulaires des lichens.
4. Accumulation intracellulaire des polluants.

L'analyse des résultats obtenus concernant la bioaccumulation du plomb chez les thalles traités de *Xanthoria parietina* montre que cette accumulation est proportionnelle au temps d'exposition c'est-à-dire qu'au fur et à mesure que la durée d'exposition augmente l'accumulation du plomb est importante (Laraba, 2004).

- **L'effet du plomb et du fluor sur les teneurs de polyphénols et flavonoïdes :**

Pour cette étude, nous avons émis l'hypothèse que le lichen étudié peut être une source potentiel d'antioxydants des extraits de lichen est généralement attribué à la présence de composés phénoliques. Nous avons confirmé la présence de ces composés dans ces extraits.

Les polyphénols sont connus d'être un groupe important de composés pharmaco logiquement actifs possédant une activité antioxydant (Bors et al, 2001).

Les composés phénoliques participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant soit le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes (Allopathie), entre les plante et les symbioses, ou bien lui permettant de résister aux divers

agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel (Macheix et al, 2005).

Après le dosage des polyphénols et des flavonoïdes, les résultats montrent que les extraits des lichens sont très riches en polyphénols et en flavonoïdes. Ces résultats sont confirmés par autre investigateur (Marijana et al, 2010).

- **Effet du plomb et du fluor sur les sucres solubles chez *Xanthoria parietina* :**

Les résultats obtenus concernant le dosage des sucres sont en accord avec ceux de (Massantini et al, 1990 in Dellaa) qui précisent que ce stress provoqué par les polluants conduit à l'accumulation des sucres dans les plantes comme substances de défenses.

Les sucres jouent un rôle dominant dans la vie de la plante, ils sont produits par photosynthèse, transportés vers les tissus profonds, canalisés vers la respiration ou convertis en composés de réserve (lipides, saccharose, amidon). La régulation de processus métabolique impliqués dépend de la concentration en sucres (Dellaa, 2003).

L'accumulation des sucres n'est autre qu'un phénomène d'adaptation au stress, permettant à la plante de maintenir sa turgescence par la diminution du potentiel hydrique, c'est une forme d'ajustement de son potentiel osmotique (Monneveux, 1989).

Ce type de tolérance permet à la plante d'assurer normalement ses fonctions physiologiques malgré une dégradation de son état hydrique interne (De Raissac, 1992).

Les sucres peuvent protéger les membranes et les protéines contre la déshydratation en incitant la formation d'une sorte de verre aux températures physiologiques (David et al, 1998).

- **Effet du plomb et du fluor sur les acides aminés :**

Les résultats concernant la dégradation des acides aminés sont en accord avec les résultats obtenus par Oliveira et al (2005) qui rapportent que chez le lichen *Xanthoria parietina* stressé par le nitrogène, l'acide aminé glycine et glutamate diminue en comparaison par le témoin.

Parmi les acides aminés, la proline qui ne constitue que moins de 5% des acides aminés libres (Matysik et al, 2002) est probablement l'un des métabolites de stress le plus répondu. La

proline est donc considérée comme un bio-marqueur métabolique de stress chez les végétaux, la relation entre le stress hydrique et l'accumulation de cet acide aminé est établie depuis longtemps. L'accumulation de proline est l'une des manifestations les plus remarquables du stress (Monneveux et Nemmar, 1986).

Ce résultat montre la même observation avec le plomb dans le radis (Tecklic et al, 2008), ou d'autres métaux lourds comme le cadmium dans le radis et l'arachide (Anuradha et Rao, 2007 ; Dinakar et al, 2011) ; cet effet étant en fonction de la concentration et la durée du stress.

- **Effet du plomb et du fluor sur la production de peroxyde d'hydrogène**

Le peroxyde d'hydrogène joue un rôle important dans le transfert d'un signal durant le stress abiotique dans la plante (Levine et al, 1994).

Cependant H_2O_2 est une molécule de signal, sa synthèse doit être contrôlée, vu sa reponse cellulaire spécifique (Neil et al, 2002).

Les résultats obtenus montrent que le lichen stressé par le plomb et le fluor produit H_2O_2 , ce dernier est considéré comme un marqueur de stress. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Panda (2007), ce dernier a étudié l'effet du chrome sur le riz, il a constaté que ce polluant produit H_2O_2 et que cette production est proportionnelle avec le temps d'exposition ainsi qu'avec la concentration des polluants.

- **Effet du plomb et du fluor sur l'accumulation du glutathion**

Les résultats obtenus concernant le dosage du glutathion sont en accord avec ceux obtenus par (Sanitaditopi et al, 2008) qui rapportent que les lichens utilisent le glutathion au cours de la détoxification, les faibles concentrations de glutathion sont observées chez les témoins.

Le plomb et le fluor provoquent une diminution progressive du taux de GSH chez les thalles traités par les plus fortes concentrations (5mM et 10mM). Une diminution du contenu de glutathion est principalement reliée à une diminution de l'activité de la glutamyl cystéine synthétase, cette dernière intervient dans la biosynthèse de GSH. Nos résultats sont aussi en accord avec ceux de (Zhu et al, 1999 ; Cao et al, 2004 et Freeman et al, 2004) chez lesquelles le niveau de GSH est diminué avec l'augmentation de la tolérance à l'accumulation du polluant pour des faibles concentrations et aussi avec celles observées par (Gallego et

al,1996;Nagalakshmi et Prasad,2001) ; Durcuix et al,2006) où le niveau de GSH diminue en réponse au stress induit par les fortes concentrations du polluant.

Les fortes concentrations des polluants altèrent le système de détoxification ce qui explique la dégradation totale du glutathion.

Conclusion

La bio-indication lichénique est une méthode qui évalue les degrés et les effets de la pollution atmosphérique.

Notre travail a pour objet la démonstration de l'impact du plomb et du fluor chez le lichen *Xanthoria parietina*. Un autre objectif consiste à comprendre l'accumulation des substances de défenses chez ce lichen.

Les résultats obtenus ont démontré que le lichen étudié est capable d'accumuler le plomb, et que cette accumulation provoque l'augmentation des taux de polyphénols, flavonoïdes, sucres solubles et du glutathion. Au contraire, les deux polluants provoquent une diminution des acides aminés à l'exception de la proline qui s'accumule chez les thalles lichéniques traités par les concentrations 1, 5 et 10mM du plomb et du fluor après 96h d'exposition.

On a conclu que ce lichen est stressé par ces polluants c'est pour ce faire on a s'intéressé au dosage de H_2O_2 qui représente un excellent indicateur du stress chez les plantes.

On a conclu aussi que les substances accumulées sont considérées comme des substances de défense contre le stress provoqué par le plomb et le fluor, mais à fortes concentrations de ces polluants altèrent le système antioxydants du lichen étudié ce qui explique la diminution de polyphénols et flavonoïdes et dégradation totale du glutathion après 48h du traitement par le plomb et 96h du traitement par le fluor.

D'une façon générale, les résultats obtenus indiquent que le plomb a une toxicité sur les lichens plus importante que le fluor.

Donc, les lichens représentent des excellents bio indicateurs de la pollution plombique et fluorée et *Xanthoria parietina* est une espèce polluo-tolérante qu'on peut l'utiliser avec efficacité dans les programmes de biosurveillance.

- Alain S (2009).** Utilisation des lichens, France, 2,3P.
- ANSES (2011).** « Exposition au plomb ».Rapport d'expertise collective ; saisine (2011-SA-0219).
- Arnaud F(2003).** « Signature climatique et anthropique dans les sédiments holocènes des lacs du Bourget et d'Anerne (Nord-Ouest des Alpes), paléohydrologie et contamination au plomb . »Thèse doctorat de l'université des sciences et techniques de lille1, p195.
- Armstrong R ET Nash.(2004).** Lichens, lichenometry and global warming, Vision sciences, Aston university, 45P.
- Anonyme (1985).** Le plomb et ses composés inorganique, File //A : plomb et sescomposés in
- Anuradha Set RaO SSR (2007).**the effect of brassinosteroids on radish (*RaphanusSativusL*).seedlings growing under cadmium stress. Plant soil Environ.53:465-472.organique .htm.
- Backor M., Klejdus B., Vantova I. et Kovacik J.(2009)** Physiological adaptations in the lichen *Petigerarufescens* and *Cladinaarbuscula* var. mitis, and the moss *Racomitrium lanuginosum* to copper-rich substrate. *Chemosphere* 76:1340-1343.
- Bates Is ,waldren RP.etteare ID (1973)** . Rapid determination of free proline for water – stress : plant soil 39 :205- 207.
- Béguinot J. (2010)** Les lichens, conquérants écologiques de l'impossible,9P.
- Bellenfant S., Vallade J., Béguinot J (2010).** Les lichens une symbiose exemplaire. Rev.Sci. Bourgogne –Nature-12-2010, 30-45.
- Benhamada w. (2004)** Utilisation des techniques de transplantation licheniques dans l'appréciation de la pollution fluorée par la briqueterie de jijel et son impact sur l'environnement.Mémoire de magister, Univercité de jijel.
- Bernard L. (2011).**Les lichens , un enjeu pour la biodiversité du finistère, France, 3-7P.
- Beschel RE. (1961).** Dating rock surfaces by lichen growth and its application to glaciologie and physiography (lichenometry). In geology of the arctic, vol, ed.GO.Raasch Toronto, university of Toronto press, 1044-1062p.
- Bonnard N,Falcy M, Hesbert D, Pillière O(2006).**plomb et composés minéraux, Paris,ISBN 2-7389-1392-X.
- Boulkroune H. (2005).** Estimation du rôle de la végétation dans la fixation des métaux lourds (cas du plomb) lié au trafic automobiles (axe Jijel – Milia).Mémoire de fin d'étude du diplôme d'ingénieur d'état en écologie végétale et environnement, université de Jijel.
- BorsW,Michel C et stettmaeir K (2001).** Antioxidant effects of flavonoids. Biofacors 6, 399,402.
- BurkittA.,Lester Pet Nickkles, G.,(1972).**Distribution of heavy metals of the vicinity of industril complex. Nature, 238, 327-328.

- Carreras, HA, pignata, ML.(2007).**effects of the heavy metals Cu^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , and Zn^{2+} on some physiological parametrs of the lichen *Usenea amplyoclada*. *Ecotox.Environ.Safe*.67, 59-66.
- Cap JN, Fowler D et Davison A, (2003).**Ecological effects of sulfur dioxide, and minor air pollutants;recent trends and research needs, *envionpollut*.
- Cao X, Ma L.Q., Tu C.(2004).** Antioxydative reponses to arsenic in the arsenic hyper accumulator Chinese brake fern *environ.Pollut*. 128, 317-325.
- Cobb GP. Sands K, Waters M, Wixson BG et Dorward-kingE(2000).** Accumulation of heavy metals by vegetables grown in mine Wastes.*EnvironToxico Chem*. 19(3):600-607.
- Cardarlli, Garcia M,D et Mata R, (1997), in Wivecke Dahl, 2003,** Contrubution à l'étude des metabolites secondaires chez les lichens *Fructiculeux cladina stellaris* et *cladina Rangiferina*, Université du Québec à Chicoutmi,24p.
- Cecasov V., pantelica, A., Salgean M., caniglia G.,Scarlat,A,(2002).** Compative study of smitability of three lichen species to trace-element air monitoring.*Environ,pollu*.(119) p 129.139.
- Chappuis.P, 1991.**les oligoélément en médecine et en biologie. Ed Lavoisier.
- Charlot A. (1969).** Réaction chimique en solution, Analyse qualitative minérale ,Edition Masson.
- CobbGP ; Sands K. Waters M , Wixson BG et Dorward – king E (2000) .** accumulation of heavy metals by vegetables grown in mine wastes ,*environ toxicochem* .19(3) : 600-607.
- Coste C, 2008,** Introduction à l'étude des lichens, venise, 1p.
- David M. M, Coelho D, Bannote I, and Correira M. J, (1998).**Leaf age effects on photosynthetic activity and sugar accumulation in droughted and rewateredlupinus.
- Déruelle S., (1992).** Accumulation du plomb par les lichens. *Ball.Soc.Bot.Fr.Bot*.(1). P99-109.
- Déruelle et lallament, (1983) .**les lichens témoins de la pollution. Thème Vuibert, université biologie(Paris).p48.
- Durcuix C, Junot C, Fiévert J.B ,Villiers F, Ezan E and Bourguignon J .(2006).**New insights into the régulation of phytochelation biosynthesis in *A.thaliana* cells from metabolite profiling analyses. *Biochimie* 88 :1733-1742.
- El Abidi A (1996).** Impact de la pollution du plomb sur l'environnement de Rabat-Salé, mémoire de magistère.
- Farou J.F.(2010).**les lichens : indicateurs environnementaux, Bordeaux, 2p.
- Frank C, (1992).**toxicologie données générales, procédures d'évaluation organes cibles, évaluation du risque. Ed. Masson, p172.
- Freeman JL, Persans MW, Nieman K, Albrecht C, Peer W, Pickering I, Salt DE .(2004).** Increased glutathione biosynthesis plays a role in nickel tolerance in *Thlaspi* nickel hyper accumulators. *Plant Cell* 16: 2176-2191.

- Garty J, Galun M et Kessel M.(1979)**, Localisation of heavy metal and other elements accumulated in the lichens thallus. *New phytologist*, 82,156-159-168p.in:**Nash, 2008**. Lichen biologie, second Edition, Arizona state University, USA, 214p, ISBN 978-0-511-41407-7.
- Gallego S.M, Benavides M.P and Tomaro M.L. (1996)**. Effect of heavy Metal ion excess on sunflower leaves: evidence for involvement of an oxidative stress.*PlantSci* 121: 151- 159.
- Goujon M.(2004)**. Connaitre pour agir :les lichens et bio surveillance de l'air, haut Normandie.
- Gregory G.et Mary Beth Dimijian.(2004)**,Les lichens et la qualité de l'air, Université catholique de Louvain,10-11p.
- Géraud.C.(2007)**. Evaluation du risque pour l'environnement des métaux lourds issus du milieu urbain.**Ecolepolytechnique Fédérale De Lausanne.SL.P8**
- Holopainen T. etKauppi M. (1989)**-.A comparison of light, fluorescence and electron microscopic observations in assessing the SO₂ injury of lichens under different moisture conditions. *Lichenologist*, 21(2) : 119-134.
- Innes J L, (1985)**, progphysGeog 9, 187-254. In Armstrong R, 2004. Lichens ,lichenometry and global warming , vision sciences Aston university,23-31p.
- Jean martin et lucienyves ,(1988)**.Santé et pollution de l'air 1^{ère} édition (P 175- 158).
- Jan w., Sheffield A(1993)**. Inventaire national des sources et des émissions de plomb, Rapport SPE, Canada, p336.
- Jeromesteulet ,(2003)**. Analyse de la concentration en plomb du sol et aux abords des pistes des aérodromes.
- Kirschbaum et Wirth, (1997)**, Les lichens et la qualité de l'air, Université catholique de Louvain, 7p.
- LauwerysR .(1992)**. toxicology industrielle et intoxication professionnelles 3^{ème}edMasson, paris pp 123- 151.
- Lambert S,(1995)**. Manuel environnement à l'usage des industriels .Ed. Afnor productivity .phyto.path,vol,19.
- Laraba.M., (2004)**, les effets du plomb sur quelque paramètre physiologique et biochimique de quelques bio indicateurs de la pollution atmosphérique. Mémoire de magister.université de Jijel.
- Levine A, Tenhaken Ret Lamb C (1994)**. H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell*.79.583-593.
- Lounamaa, K.J., (1956)**. Trace élément in plants growing Wild on different rocks in finland. A Semi quantitative spectrographic Survey. *Ann, Bot, Soc*, 29 :1-196.

- Macheix J, Fleuriet A et Jay-Allemand C. (2005).** les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses Poly technologiques et universitaires romandes. P 4,5,37,121.
- Matysik J, Alia Bhalu B et Mohanty P (2002).** Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. *CurSci* .82:525-532.
- Monneveux P.H et Nemmar M. (1986).** Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tendre. Etude de l'accumulation de la proline au cours du cycle de développement. *Agronomie*: 17 pages
- Nagalakshmi N et Prasad M.N.V. (2001).** Responses of glutathione cycle enzymes and glutathione metabolism to copper stress in *Scenedes musbijugatus*. *Plant Sci* 160: 291-299.
- Nieboer, E ,Richardson, D.H.S et Tomassini,F.D.(1978).** Mineral uptake and release in lichen exposure studies, *New Phytologist*, 81,226-246p.
- Neill SJ, Desikan R et Hancock J(2002).** Hydrogen peroxide signaling. *Current Opinion in Plant Biology* .5:388-395.
- Nultsch W , (1998),** Botanique générale, Paris, 368-369p, ISBN: 2-7445-0022-4. of Gyrophoric. AA Anadolu University. 3p.
- Oliveira G, Dehlman L, Palmqvist K.(2005),** Nitrogen uptake in relation to excess supply and its effects on the lichens *Everniaprunastri*(L) Achard *Xanthoria parietina*(L) Th. Fr. *Journal of Plant Ecology* 220: 794-803.
- Ozenda Paul, (2000),** les végétaux : organisation et diversité biologique, Dunod, Paris, 20-21-84-85-169-170-175-189-190-191-192p. ISBN : 210 05072490.
- Ozenda et Clauzade, (1970),** les lichens : étude biologique et flore illustrée, Masson, Paris, 109p.
- Pais I et Benton J. ,(2000) .** « The handbook of trace Elements ». Boca Raton, FL, St. Lucie press 223p.
- Panda SK(2007).** Chromium-mediated oxidative stress and ultrastructural changes in root cells of developing rice seedlings. *Journal of Plant Physiology* 164 :1419-1428.
- Patra M, Bhowmik N, Bandopadhyay, Bet sharma A (2004).** comparison of mercury lead, and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance , *Environmental Experiment Botany* 52:199-223.
- Perrot J, 2002,** L'amour des lichens, la salamandre, 50-52-148p.
- Popescu M ; Blinard ; JM ; Carre J ,(1998).** Analyse et traitement physico-chimiques des rejets atmosphériques industriels ; émissions, fumées, odeurs et poussières, Ed, Masson, pp12-120.
- Ramad F.(2002),** Dictionnaire encyclopédique de l'écologie et des sciences de l'environnement, Dunod, Paris, ISBN 2 10 006670 6, 142-457-460-561-827p.

- Ramade F. (2000)**, Dictionnaire encyclopédique de l'écologie et des sciences de l'environnement, Ed science, Paris, 124p.
- Ramade F. (1995)**. Eléments d'écologie, écologie appliquée. 5ème Edition. Ed. Science International: 89-90.
- Raven P. (2000.)** Evert et Eichhorn, 2000. Biologie Végétal, Paris, 338-339-340p, ISBN : 2-7-445-0102-6.
- Reviere(2002)**. Biologie et phylogénie des algues, tome 1, paris, 48p, ISBN : 2-7011-3083-2.
- Rodier j. Benffe HM., BournaudM., Broutinjp.(1984)**. L'analyse de l'eau, eaux naturelles , eaux résiduaires , eau de mer , Ed Bordas ; paris, 1075 p.
- Sanita` di Toppi L., Pawlik-Skowron`ska B., Vurro E., VattuoneZ., Kalinowska R. Restivo FM., Musetti R., Skowron`skiT.(2008)** First and second line mechanisms of cadmium detoxification in the lichen photobiont *Trebouxia impressa* (Chlorophyta) *Journal of Environmental Pollution* 151 : 280-286
- Semadi A.(1989)**. Effet de la pollution atmosphérique pollution globale fluoré et plombique sur la végétation de la région de Annaba (Algerie) thème d'état Univ.p et M. carie. France.
- Sérusiaux E., Diederich p. et Lambinon F.J. (2004)**. Lichens forestiers de Wallonie : introduction et aide à la reconnaissance de dix espèces indicatrices, 6p.
- Sharma P et Dubey RS. (2005)**. lead toxicity in plants . *braz j plant physio* .17 (1):35-52.
- Slinkardetslingleton VL. (1997)**. Totale phenolic analyses : automatioin and comparison with manual methode. *Am J EnolVitic*.28:49-55.
- Sposito G. , Lund LJ. et Chang AC. (1982)** . Trace metal chemistry in arid -zone field soil amended with sewage sludge: In fractionation of Ni, Cu, Zn , Cd , and Pb in solid phases . *soil sciAme J* . 46 (2) : 260-264.
- Taklic T., HamcockJT, Engler M(2008)**, Antioxydative respouse in radish (*raphyanussatinus* L) plant stressed by copper and lead in nutrient solution and soil, *Act Bio Cracoveinsia Ser Bot*.50: 79-86.
- Viala A., Botta A. (2005)**. Toxicologie, Ed, Tec& Doc EM inter Lavoisier.
- Wirth V. (1972)**, Die Silikatfen- Gemeinschaften in ausseralpinen zentraleuropa, Dissertation Botanicae, 17-1-306p. in Nash.2008. lichen biology, second edition, Arisona state university, USA, 214p, ISBN 978-0-511-414407-7.
- WirthV. (1995)**. flechtenflora, verlag Ulmer, 580p, in: Gregory G et Mary Beth Dimijian, 2004, les lichens de la qualité de l'air, université catholique de Louvain, 7p.
- Zhu YL., Pilon-Smits E., Tarun AS., Jouanin L., Terry N. (1999)**. Overexpression of glutathione synthetase in indian mustard enhances cadmium accumulation and tolerance. *Plant Physiology* 119: 73-80.

Zaafour M.(1992). Incidance de la pollution atmosphérique d'origine industriel sur la biologie et la physiologie de la reproduction de poirie cummun thèse de magister. Univercité de Annaba(Algie).

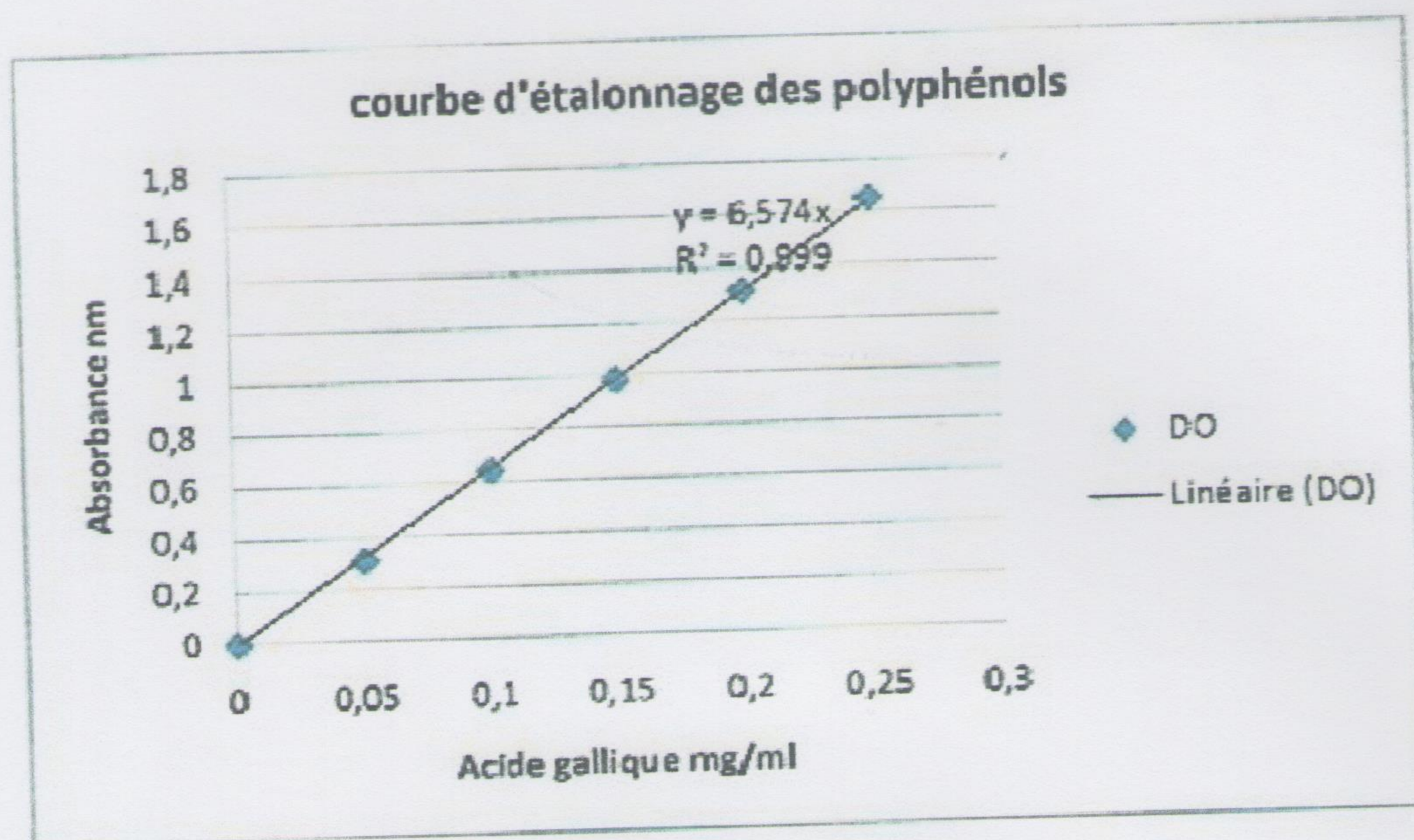


Figure 1 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

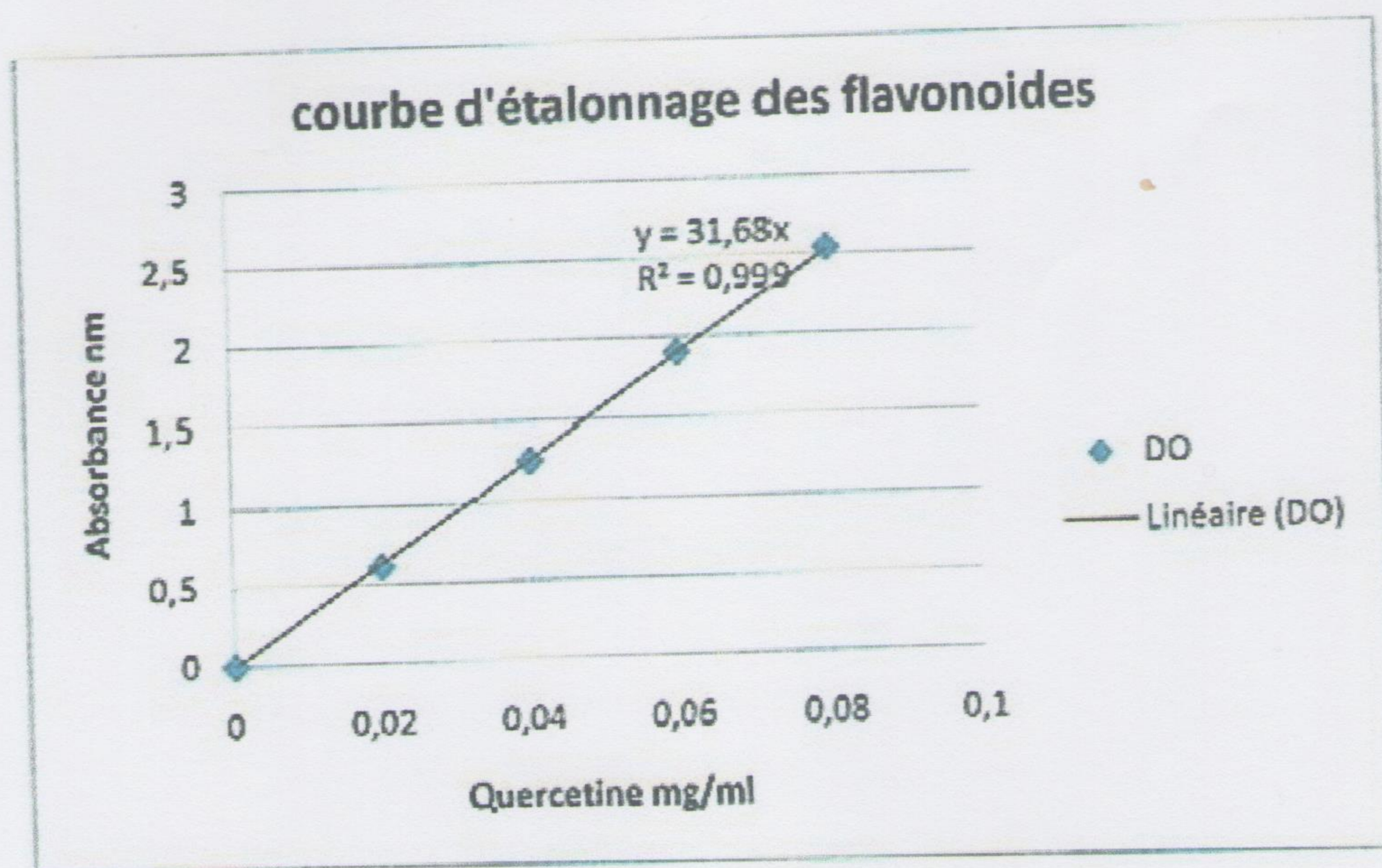


Figure 2 : courbe d'étalonnage de Quercetine.

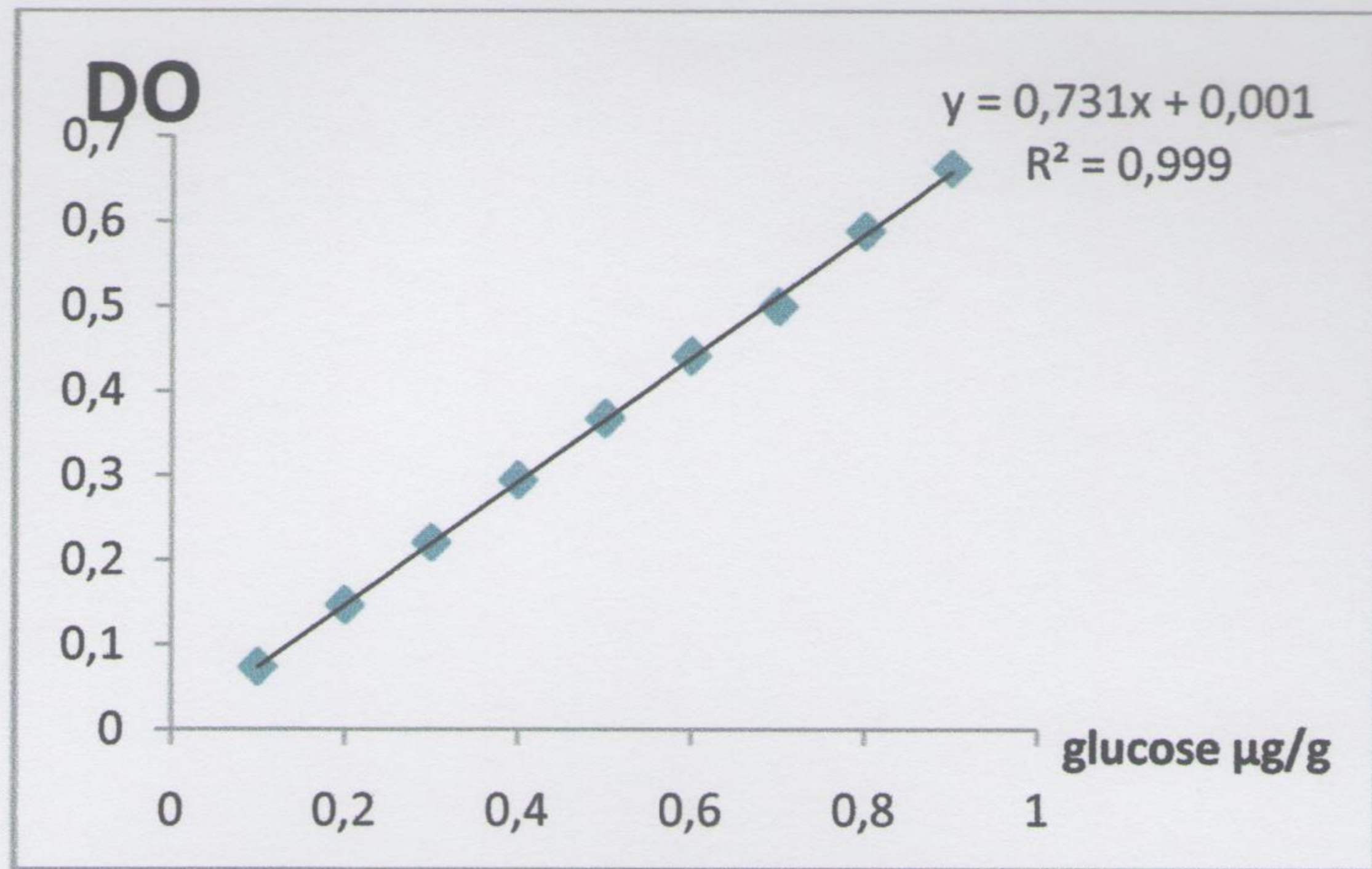


Figure 3 : Courbe d'étalonnage de glucose.

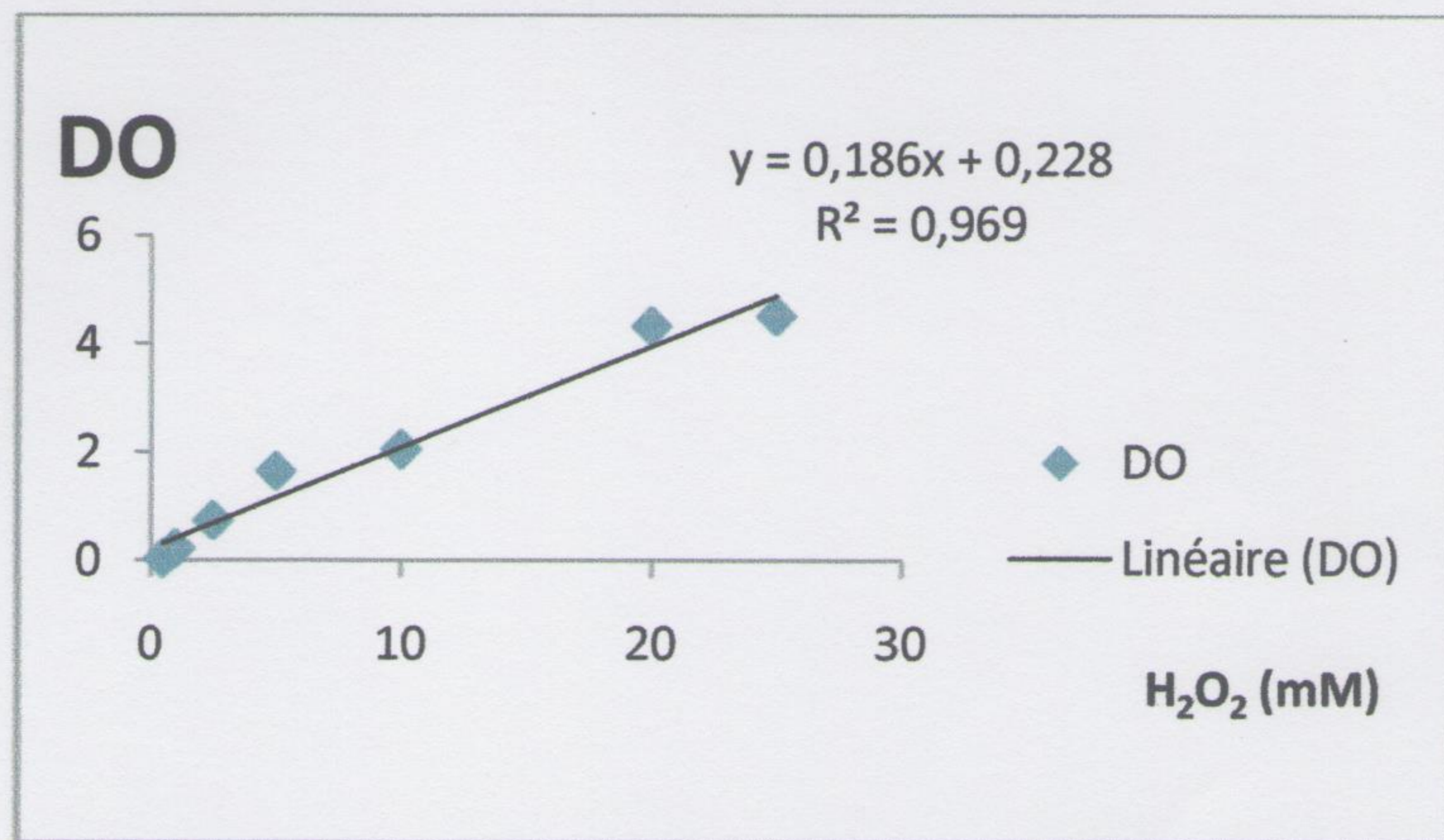


Figure 4 : Courbe d'étalonnages par H₂O₂

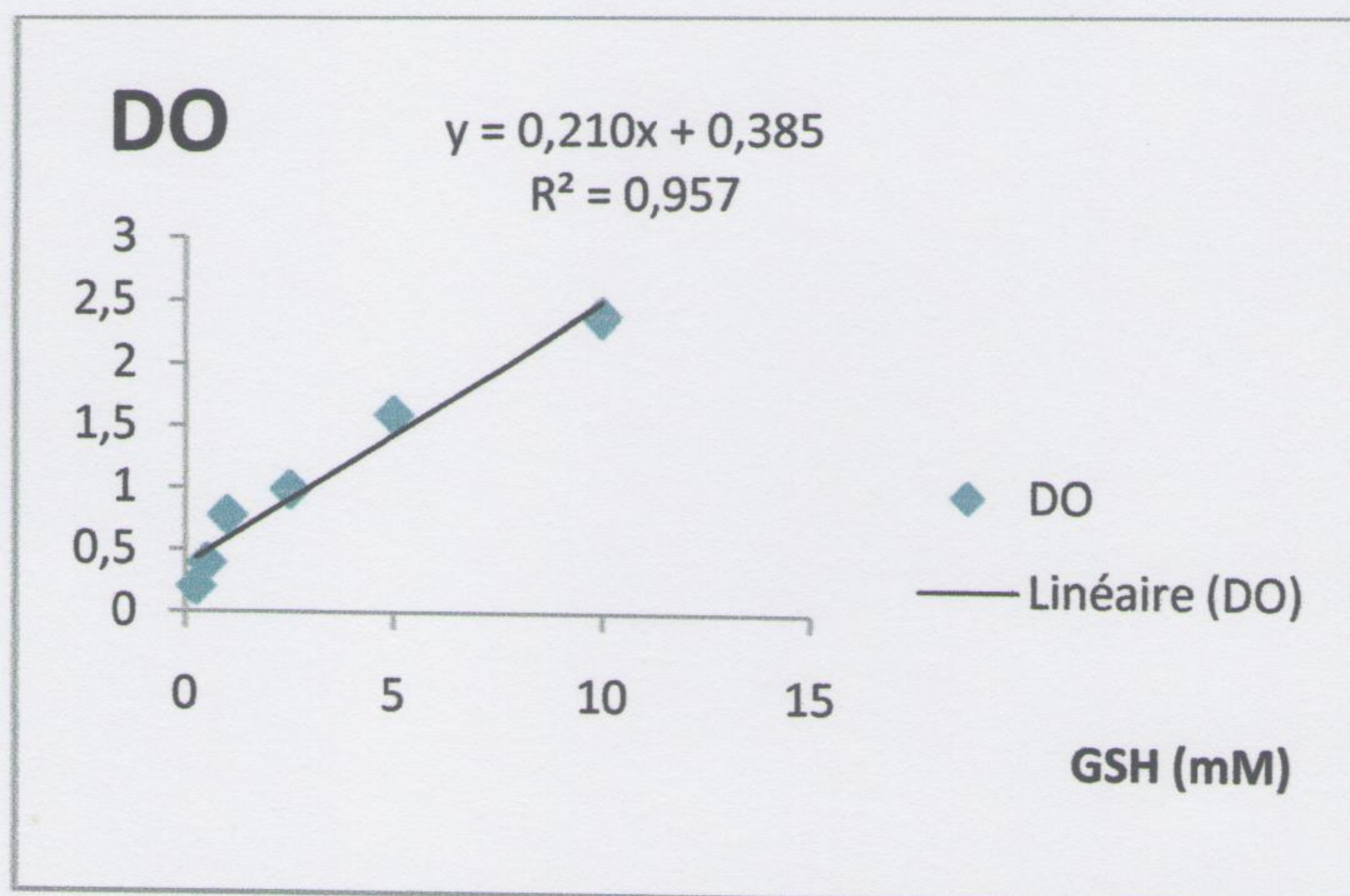


Figure 5 : Courbe d'étalonnage par GSH

	0mM	0.5mM	1mM	5mM	10mM
0h	294,48±43.4	315,1±51.21	352,86±55.58	290,9±50.71	227±43.46
24h	379,7±29.1	406,77±31.33	412,44±39.34	408,83±32.51	332,78±29.10
48h	355,77±40.33	325,39±87.53	413,44±45.34	373,69±15.09	325,4±40.33
96h	324,37±25.11	310,84±61.53	339,79±76.37	209,83±81.98	353,73±25.11

Tableaux1 : Variation des teneurs polyphénols chez les lichens *Xanthoria parietina* traité par le plomb.

	0mM	0.5mM	1mM	5mM	10mM
0h	294,48±43.46	335,03±41.07	362,56±70.68	356,50±56.50	379,91±64.73
24h	398,44±40.33	409,05±45.17	443,57±9.71	289,24±49.72	360,23±43.71
48h	355,77±40.33	325,85±31.56	351,70±36.11	306,61±38.83	315,10±43.31
96h	324,37±25.11	314,83±40.50	294,70±46.11	377,66±79.53	350,64±71.93

Tableaux2 : Variation des teneurs en polyphénols chez les lichens *Xanthoria parietina* traité par le fluor.

	0mM	0.5mM	1mM	5mM	10mM
0h	14,859±0.57	16±1	15,57±1.73	10,859±0.57	8±1
24h	9,097±5.29	19,333±6	27,886±6.65	27,908±4.72	15,04±5.13
48h	32,721±4.16	58,036±6.1	55,721±9.16	53,93±6.80	10,192±0.57
96h	37,41±16.25	67,535±3.60	53,097±5.29	54,23±21.22	17,37±3.51

Tableaux3 : Variation des teneurs en flavonoïdes chez les lichens *Xanthoria parietina* traité par le plomb.

	0mM	0.5mM	1mM	5mM	10mM
0h	14,85±0.57	17,018±3.05	16±2	18,91±1.7	23,57±1.73
24h	9,097±5.29	28,577±19.7	33,23±21.7	27,12±17.38	24,18±6.55
48h	32,72±4.16	34,054±4.16	35,24±4.72	21,36±8.08	27,17±3.51
96h	37,41±16.25	52,09±16.28	47,83±4.50	65,83±12.50	53,01±3.055

Tableaux4 : Variation des teneurs du flavonoïdes chez les lichens *Xanthoria parietina* traité par le fluor.

	0mM	0,5mM	1mM	5mM	10mM
0h	110,806±16.4	47,867±2.36	105,333±10.32	95,749±8.55	98,494±29.5
24h	82,0783±21.32	105,334±12.53	87,544±49.65	73,865±26.91	176,47±14.79
48h	82,079±21.32	131,53±15.53	183,17±127.41	206,565±121.9	261,285±20.24
96h	130,33±50.98	230,12±63.17	196,99±21.71	190,149±16.58	244,869±24.04

Tableaux7: Variation des teneurs des sucres solubles chez les lichens *Xanthoria parietina* traité par le plomb.

	0mM	0,5mM	1mM	5mM	10mM
0h	110,806±16.4	160,053±60.73	95,758±38.13	151,845±39.46	192,885±59.61
24h	82,0783±21.32	160,054±86.18	93,023±27.91	129,958±35.38	173,87±10.86
48h	82,079±21.32	131,326±55.51	201,094±17.88	275,965±32.83	254,445±111.71
96h	130,33±50.98	129,958±31.87	143,638±32.05	196,989±49.92	229,821±47.32

Tableaux8: Variation des teneurs des sucres solubles chez les lichens *Xanthoria parietina* traité par le fluor.

	0mM	0,5mM	1mM	5mM	10mM
0h	3,246±0.06	1,683±0.08	3,242±0.096	3,814±0.25	4,054±0.25
24h	3,278±0.22	4,043±0.08	5,524±0.188	5,835±3.64	5,642±1.87
48h	4,562±0.28	6,829±0.21	6,526±0.65	7,57±0.54	7,108±0.51
96h	15,08±2.99	9,311±0.23	15,992±2.53	16,95±1.52	13,303±2.83

Tableaux5 : Variation des teneurs en H_2O_2 chez les lichens *Xanthoria parietina* traité par le plomb.

	0mM	0,5mM	1mM	5mM	10mM
0h	3,246±0.06	2,334±0.10	4,258±0.16	1,854±0.11	6,093±0.11
24h	3,278±0.22	7,155±0.27	10,588±4.50	3,775±0.30	2,884±0.15
48h	4,562±0.28	6,425±0.22	7,853±0.26	6,082±0.42	7,295±0.44
96h	15,08±2.99	20,121±0.29	21,801±0.05	23,893±0.16	23,325±0.37

Tableaux6 : Variation des teneurs en H_2O_2 chez les lichens *Xanthoria parietina* traité par le fluor.

Réalisé par :

Charef Sarah.

Chennah Madjeda.

Jury :

Président : M^{eme} Lemzeri.H

Examineur : M^{eme} Amira .W

Encadreur : M^{eme} Benhamada .W

Date de soutenance : 25 /06/2014

Thème

Dégradation des acides aminés et accumulation des substances de défense chez le lichen *Xanthoria parietina* stressé par le plomb et le fluor.

Résumé

Dans notre travail on s'est intéressé aux effets toxiques de deux polluants, plomb et fluor sur le lichen *Xanthoria parietina*, et ceci par traitement des thalles de ce lichen par les nitrates du plomb $Pb(NO_3)_2$ et au fluorure de sodium (NaF) solubles dans l'eau à des concentrations différentes (0, 0.5, 1, 5 et 10mM) dans une échelle du temps déterminée (0,24, 48 et 96heure).

Les résultats obtenus des analyses des différents paramètres (polyphénol et flavonoïdes, sucres solubles, acides aminés, H_2O_2 , GSH,) ont montré que le plomb et le fluor provoquent une augmentation des polyphénols, des flavonoïdes, sucre soluble, H_2O_2 et GSH et une diminution des acides aminés.

Mots clés : plomb, fluor, lichen, polyphénols, flavonoïdes, sucres, acides aminés, H_2O_2 , GSH.

Abstract

In our work we were interested about the toxic effects of two pollutants, lead and fluorine on the lichen *Xanthoria parietina*, and this by treating the lichen thalli by the lead nitrates $Pb(NO_3)_2$ and fluoride of sodium (NaF) soluble in water at different concentrations (0, 0.5, 1, 5, 10 Mm) in a determined time scale (0, 24, 48 and 96 hours).

The analysis results obtained from different assays (polyphenol and flavonoids, soluble sugar , amino acids, H_2O_2 , GSH) showed that, lead and fluorine caused an augmentation of polyphenol and flavonoids, soluble sugar H_2O_2 , GSH and diminution of amino acids

Keywords: lead, fluorine, lichen, polyphenols, flavonoids, soluble sugar, amino acids, H_2O_2 , GSH.

المخلص

من خلال دراستنا هذه اهتمنا بدراسة الآثار السمية للملوثين الرصاص و الفليور عند الأشنة *Xanthoria parietina* عن طريق معالجة جهازها النباتي بنترات الرصاص $Pb(NO_3)_2$ و فلوريد الصوديوم (NaF) المنحلين بتراكيز مختلفة في الماء (0, 0.5, 1, 5, 10 Mm) خلال مدة زمنية محددة (0, 24, 48, 96 ساعة). نتائج التحاليل المتحصل عليها من مختلف الفحوصات (البليفيول ، الفلافونويدات ، السكريات المنحلة ، الأحماض الأمينية، الماء الأكسجين H_2O_2 ، GSH) أظهرت أن مادتي الرصاص و الفليور تسببان ارتفاع البليفيول و الفلافونويدات، السكريات المنحلة، الماء الأكسجين H_2O_2 و GSH و انخفاض في الاحماض الامينية.

الكلمات المفتاحية: الرصاص ، الفليور ، اشنة، البليفيول، الفلافونويدات، السكريات المنحلة، الاحماض الامينية، H_2O_2 ، GSH.