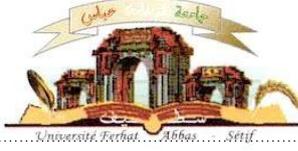


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Ferhat Abbas Sétif 1
Faculté des Sciences de la Nature et
de la Vie



جامعة فرحات عباس، سطيف 1
كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT D'ÉCOLOGIE ET BIOLOGIE VÉGÉTALES

N°/SNV/2020

THÈSE

Présentée par

DOUBI Chahra

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT 3^{ÈME} CYCLE

Filière : **BIOLOGIE**

Spécialité : **VALORISATION ET PROTECTION DE LA BIODIVERSITÉ**

VÉGÉTALE

Thème

Biodiversité lichénique de la région de Sétif et sa bio-indication dans la
pollution atmosphérique

Soutenue publiquement le **11/11/2020**

DEVANT LE JURY

Président	Pr. Lograda Takia	UFA Sétif 1
Directeur	Pr. Ramdani Messouad	UFA Sétif 1
Co-directeur	Pr. Chalard Pierre	UCF France
Examineurs	Pr. Ouahrani Ghania	UFA Sétif 1
Examineurs	Pr. Aziz Laifa	UBM Annaba
Examineurs	MCA. Trea Saliha	UBM Annaba

Laboratoire de Valorisation des Ressources Biologiques Naturelles (VRBN)

Remerciements

En tout premier lieu, je remercie le bon Dieu, tout puissant, de m'avoir donné la force pour survivre, ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés.

Je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements à **M. Ramdani Messaoud** professeur à l'université de Sétif 1, qui fut pour moi un directeur de thèse attentif et disponible malgré ses nombreuses charges. Sa compétence, sa rigueur scientifique et sa clairvoyance m'ont beaucoup appris.

Je tiens à remercier mon Co-encadreur de thèse **M. Chalaré Pierre** professeur à l'université Clermont Ferrand, France, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire de chimie des huiles essentielles et pour avoir mis à ma disposition tous les moyens dont j'avais besoin pour le bon déroulement de cette thèse.

Mes sincères remerciements et ma gratitude vont à **M^{me} Lograda Takia** professeur à l'université de Sétif 1, pour avoir accepté de juger ce travail et d'en présider le jury de soutenance. Que vous soyez assuré de mon entière reconnaissance.

Je remercie ensuite sincèrement les membres de mon jury : **M^{me}. Ouahrani Shania** professeur à l'université de Sétif 1, **M. Laïfa Aziz** professeur à l'université d'Annaba et **M^{me}. Trea Saliha MCA.** à l'université d'Annaba en tant qu'examineurs attentifs. Merci d'avoir pris le temps et d'avoir eu la patience de lire ce manuscrit, et d'y avoir apporté vos remarques.

J'aimerais également exprimer ma gratitude à Monsieur Gilles Figueredo, Directeur de LEXOL Analytique pour son aide dans la réalisation de l'analyse phytochimiques.

Mes remerciements vont particulièrement à mon père, qui m'a constamment encouragé et soutenu tout au long de mes années d'études. J'adresse des remerciements de même ordre à ma mère, qui m'a élevée avec tendresse et m'a inculqué ce grand goût de dépassement de tous les obstacles.

Enfin je dédié ce travail à :

- Mes parents.*
- Mon époux.*
- Mon beau petit prince 'Mohamed Adam'.*
- Mes frères, mes sœurs et leurs familles'.*
- Ma grande famille.*
- Mes amis.*

Résumés

الملخص

إن تقييم شدة التلوث البيئي من خلال المراقبة الحيوية عن طريق الجمع بين منهجين التراكم البيولوجي و التأشير البيولوجي. من خلال خصائصها الفسيولوجية و الخارجية ، الأشنات أثبتت فعاليتها وخاصة بقدرتها على تراكم الملوثات مثل المعادن الثقيلة مثل الكوبالت الكروم نحاس حديد النيكل زنك رصاص. في هذه الدراسة ،تم استخدام صنف من الأشنة الورقية *Xanthoria paritina*. لقياس تراكم المعادن الثقيلة المنبعثة من مصادر بشرية المنشأ مثل حركة المرور في ولاية سطيف .ان النتائج المتحصل عليها تبين بشكل واضح نسب تركيز عالية بنسبة لجميع المعدن خاصة الرصاص . من اجل اظهار كمية التلوث قمنا بإجراء عدة خرائط لنسبة التلوث بالنسبة لكل صنف من المعادن المدروسة . تم الحصول على بيانات جديدة عن حساسية الأنواع الأشنة من الملوثات من خلال مؤشرات التنوع البيولوجي التأشير البيولوجي بالإضافة إلى التحليلات الإحصائية متعددة المتغيرات . أجريت دراسة كيميائية نباتية على الأشنات *Ramalina farinacie* و *Evernia prunastr* . عن طريق استخراج الزيوت الأساسية لنوعين من الأشنة بواسطة التقطير المائي. تم تحليل التركيب الكيميائي للزيوت الأساسية لأنواع الأشنة بواسطة GC و GC / MS و حدد التحليل 32 مركباً *Evernia prunastr* و 34 مركباً *Ramalina farinacie* مع وجود اختلاف كيميائي بين هذه الأنواع. تقييم النشاط المضاد للميكروبات للزيوت الأساسية للأشنات اظهر تأثيراً ضعيفاً نسبياً على جميع البكتيريا التي تم اختبارها.

الكلمات المفتاحية التلوث ، الأشنات ، المعادن ، التراكم الحيوي ، التأشير الحيوي ، الزيت العطري ، التركيب الكيميائي ، نشاط مضادات الميكروبات ، سطيف

Résumés

Résumé

L'évaluation de l'intensité de la pollution à travers la biosurveillance a été effectuée en couplant les deux approches de bioaccumulation et de bioindication. Par leurs caractéristiques physiologiques et morphologiques, les lichens s'avèrent très efficaces pour répondre à cette problématique notamment leur capacité à accumuler les contaminants en l'occurrence les éléments traces métalliques (Co, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb et Zn). Le lichen *Xanthoria paritina* est utilisé, dans cette étude, en tant que bio-moniteur passive des éléments traces métalliques qui sont émis par des sources anthropiques comme le transport routier dans la wilaya de Sétif. L'enregistrement des éléments traces par les lichens indique une forte contamination notamment par le Pb. Afin d'apprécier la repartition spatiale de cette pollution, il a été élaboré une série de cartes de pollution pour chaque élément métallique.

De nouvelles données concernant la sensibilité des espèces lichéniques face aux polluants ont obtenues à partir des indices de biodiversité et de bioindication couplés à des analyses statistiques multivariées.

Une étude phytochimique sur les lichens a été réalisée par l'extraction des huiles essentielles de deux espèces lichénique : *Evernia prunastr* et *Ramalina farinacie* par hydro distillation. La composition chimique des huiles essentielles des espèces de lichen a été analysée par GC et GC/MS L'analyse a permis d'identifier 32 composés pour *Evernia prunastriet* et 34 composés pour *Ramalina farinacie* avec la présence d'une variabilité interspécifique importante, L'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles deux espèces des lichens a montré un effet relativement faible contre toutes les bactéries testées.

Mots clefs pollution, lichens, métaux, bioaccumulation, bioindication, Huile essentielle, Composition chimique, Activité antimicrobienne, Sétif

Résumés

Abstract

The assessment of the intensity of pollution through biomonitoring by coupling the two approaches of bioaccumulation and bioindication. By their physiological and morphological characteristics, the lichens are very effective to answer to this problem in particular their capacity to accumulate the contaminants in this case the metallic trace elements (Co, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb and Zn). In this study, lichen *Xanthoria parvula* is used as a passive bio-monitor for metallic trace elements emitted by anthropogenic sources such as road transport in the wilaya of Sétif. The registration of trace elements by organisms indicates a high level of contamination, particularly by Pb. In order to assess the spatial distribution of this pollution, a series of pollution maps for each metal element has been developed. New data on the sensitivity of lichen species to pollutants were obtained from biodiversity and bioindication indices coupled with multivariate statistical analyzes. A phytochemical study on lichens was carried out by extracting the essential oils of two lichen species: *Evernia prunastri* and *Ramalina farinacea* by hydro distillation. The chemical composition of the essential oils of the lichen species was analyzed by GC and GC / MS. The analysis identified 32 compounds for *Evernia prunastri* and 34 compounds for *Ramalina farinacea* with the presence of significant interspecific variability. The evaluation of the antimicrobial activity of the two lichen species essential oils showed a relatively weak effect against all bacteria tested.

Keywords: pollution, lichens, metals, bioaccumulation, bioindication, essential oil, chemical composition, antimicrobial activity, setif

Liste des figures

Figure 1 : Transfert des polluants atmosphériques

Figure 2 : Échanges nutritionnels entre les partenaires des lichens.

Figure 3 : Principaux types de thalles

Figure 4 : Structure anatomique des lichens : structure homéomère (a) ; structure hétéromère (b)

Figure 5 : Organes reproductifs des lichens : (a) apothecies, (b) lirelles, (c) peritheces, (d) soralies, (e) isidies

Figure 6 : Mécanismes d'absorption des métaux dans les lichens

Figure 7 : Situation géographique de la zone d'étude

Figure 8 : Grille d'échantillonnage

Figure 9 : Échelle d'évaluation des classes de qualité de l'air

Figure 10 : Échelle d'évaluation des classes de qualité de l'air.

Figure 11 : *Xanthoria Parietina*

Figure 12 : Populations de lichens étudiées

Figure 13 : *Ramalina farinacea*

Figure 14 : *Evernia prunastri*

Figure 15 : Dispositif d'extraction de type Clevenger

Figure 16 : Principe de la méthode de diffusion de disque.

Figure 17 : Abondance lichénique dans la région de Sétif.

Figure 18 : Proportion des types physiologiques de thalles lichéniques.

Figure 19 : Familles lichéniques recensées dans la région de Sétif.

Figure 20 : Variabilité des indices de biodiversité et de bioindication.

Figure 21 : Cercle des corrélations, projection des variables sur le plan (1x2).

Figure 22 : Projection des communes, sur le plan 1-2.

Figure 23 : Projection des communes, sur le plan 1-3.

Figure 24 : Projection spatiale des communes, basée sur les trois premiers axes.

Figure 25 : Dendrogramme des communes basée sur les indices de bioindication et biodiversité.

Figure 26 : Qualité de l'aire dans la région de Sétif

Figure 27 : Pureté de l'aire dans la région de Sétif

Figure 28 : ICP des stations d'étude.

Figure 29 : Variabilité de la concentration des ETM dans le thalle de *Xanthoria parietina*

Figure 30 : Cercle des corrélations, projection des variables sur le plan (1x2)

Liste des figures

Figure 31 : Cercle des corrélations, projection des variables sur le plan (1x3)

Figure 32 : Projection des daïra, sur le plan 1-2

Figure 33: Projection des daïra, sur le plan 1-3

Figure 34 : Projection spatiale des daïra, basée sur les trois premiers axes

Figure 35 : Dendrogramme des ETM dans les thalles de *X. Parietina*

Figure 36: Dendrogramme des daïra, basée sur la concentration des métaux lourds

Figure 37: Carte de distribution de Chrome

Figure 38 : Carte de distribution de Nickel

Figure 39 : Carte de distribution de Fer

Figure 40 : Carte de distribution de (a) Cuivre, (b) Zinc

Figure 41 : Carte de distribution de Cobalt

Figure 42 : Carte de distribution de Plomb

Figure 43 : profile GC/FID de deux lichens (A-E. prunastri, B- R. Farinace

Figure 44 : les classes chimiques d'Evernia prunastri

Figure 45: les classes chimiques de Ramalina farinacie

Liste des tableaux

Tableau 1 : Sources de contamination en métaux lourds de l'environnement

Tableau 2 : Exemples d'espèces lichéniques utilisées dans les études récentes de biosurveillance des ETM.

Tableau 3 : la composition chimique de quatre types de lichens.

Tableau 4: Localisation des stations échantillonnées de la région de setif

Tableau 5 : Fréquence des espèces lichéniques dans la région d'étude.

Tableau 6 : Familles lichéniques

Tableau 7 : Indices écologiques lichénique.

Tableau 8 : Classement des stations d'étude selon la VDL.

Tableau 9 : Matrice de corrélation des indices de biodiversité et de bioindication.

Tableau 10 : Concentrations des ETM dans les thalles de *Xanthoria parietina* (mg/Kg)

Tableau 11 : FC/ICP des stations.

Tableau 12 : Matrice de corrélation des variables

Tableau 13 : Composition chimique de l'huile essentielle de deux lichens.

Tableau 14 : Classe chimique et composé majoritaire d'*Evernia prunastri*

Tableau 15 : Classe chimique et composé majoritaire de *Ramalina farinacea*

Tableau 16 : activité antimicrobienne

Liste des abréviations

ACP Analyse en Composantes Principales

AFNOR Association Française de Normalisation

ATCC : American Type Collection Culture

CG/FID : Chromatographe équipé d'un détecteur à ionisation de flamme

CG/SM : Chromatographie en phase gazeuse/Spectrométrie de masse

Co Cobalt

Cr Chrome.

Cu Cuivre.

DMSO : Diméthyl Sulfoxyde

ETM Éléments Traces Métalliques

FC Facteur de contamination

Fe Fer

HE : Huiles Essentielle

ICP Indice de charge de pollution

IK : Indice de Kovats

IPA Indice de Pureté de l'Air

IQA Indice de Qualité de l'Air

IR : Indice de Rétention

Ni Nickel

Pb Plomb

SAA : Spectrophotomètre à Absorption Atomique

UPGMA. Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean

VDL Valeur de Diversité Lichénique

VRBN : Laboratoire de Valorisation des Ressources Biologiques Naturelles

Zn. Zinc

Sommaire

Remerciements

Résumés

Liste des abréviations

Liste des Figures

Liste des Tableaux

Sommaire

Introduction générale.....1

Synthèses bibliographique

1. Pollution atmosphérique.....4

1.1. Origine de la pollution atmosphérique4

1.2. Transferts de contaminants dans l'atmosphère5

1.3. Contamination atmosphérique en éléments traces6

1.3.1. Origine des métaux lourds 7

1.3.2. Les ETM les plus réponsus 8

1.3.2.1. Le Plomb (Pb)..... 8

1.3.2.2. Le Cuivre (Cu)..... 9

1.3.2.3. Le Fer (Fe) 9

1.3.2.4. Le Zinc (Zn)..... 9

1.3.2.5. Le Cobalt(Co) 9

1.3.2.6. Le Chrome (Cr)..... 10

1.3.2.7. Le Nickel (Ni)..... 10

1.3.3. Transport et dépôt des ETM..... 10

1.3.4. Effets des ETM sur l'environnement 11

1.3.5. Effets sur la santé humaine 12

2. La biosurveillance de la qualité de l'air 13

2.1. Les concepts de la biosurveillance 13

2.1.1. Le bio-indicateur..... 13

2.1.2. Le biomarqueur 14

2.1.3. Le bio-intégrateur..... 14

2.1.4. Le bio-accumulateur..... 14

2.2. Les approches de la biosurveillance..... 15

2.2.1. La méthode *in situ* 15

2.2.2. La méthode des transplants 15

3. Les lichens..... 16

Sommaire

3.1. Les partenaires de la symbiose lichénique.....	16
3.1.1. Le Mycobionte.....	16
3.1.2. Le Photobionte.....	16
3.2. Echanges nutritionnels entre les partenaires.....	17
3.3. Structure anatomique des lichens.....	17
3.3.1. Structure homéomère.....	18
3.3.2. Structure hétéromère.....	18
3.4. Morphologie des lichens.....	18
3.4.1. Les thalles crustacés.....	18
3.4.2. Les thalles foliacés.....	19
3.4.3. Les thalles fruticuleux.....	19
3.4.4. Les thalles squamuleux.....	19
3.4.5. Les thalles composites.....	19
3.4.6. Les thalles gélatineux.....	19
3.4.7. Les thalles lépreux.....	19
3.5. Reproduction des lichens.....	20
3.6. Croissance des lichens.....	21
3.7. Ecologie des lichens.....	21
3.8. Utilisation des lichens.....	22
3.8.1. Usages Médicinaux.....	22
3.8.2. Usages alimentaires.....	23
3.8.3. Utilisation en Teinturerie.....	23
3.8.4. Utilisation en Parfumerie.....	23
3.9. Sensibilité des lichens face à la pollution atmosphérique.....	23
3.10. Les lichens bio-accumulateurs des polluants métalliques.....	24
3.10.1. Mécanismes d'accumulation des métaux.....	26
3.10.2. Variations des éléments trace métalliques (ETM) dans les lichens.....	27
3.11. Objectifs de biosurveillance des ETM par les lichens.....	29
3.11.1. Identification des sources de pollution et suivi de l'environnement.....	29
3.11.2. Etude des risques sanitaires.....	30
4. Les huiles essentielles.....	31
4.1. Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	31
4.2. Composition chimique.....	31
4.3. Méthodes d'analyse des huiles essentielles.....	31
4.3.1. La chromatographie en phase gazeuse.....	32

Sommaire

4.4. Activité antimicrobienne des huiles essentielles	32
4.5. Les huiles essentielles des lichens.....	33
4.6. Rôle des métabolites secondaires.....	33
4.7. Les composants odorants dans les HE des lichens.....	34
4.8. Composition chimique des lichens.....	34

Matériel et Méthodes

1. Zone d'étude	38
1.1. Situation géographique	38
1.2. Le climat	39
1.3. La végétation	39
1.4. Le réseau routier	39
2. Bio indication par les lichens.....	40
2.1. Matériel utilisé sur le terrain.....	42
2.2. Méthode de l'échantillonnage	42
2.3. Maillage	42
2.4. Choix des arbres	42
2.5. Les relevés	43
2.6. Récolte des lichens.....	44
2.7. Détermination des lichens.....	44
2.8. Calcul des indices de bioindication.....	44
2.8.1. Calcul de l'indice de qualité de l'air (IQA)	44
2.8.2. Calcul de l'indice de pureté de l'air (IPA)	45
2.8.3. Calcul de valeur de diversité lichénique (VDL)	46
2.8.4. Calcul d'Indice de Shannon (H').....	46
3. Bioaccumulation par les lichens.....	46
3.1. Prélèvement	46
3.2. Choix des phorophytes.....	46
3.3. Espèces lichéniques utilisées.....	47
3.4. Matériel utilisé.....	48
3.5. Préparation des échantillons.....	48
3.5.1. La déshydratation.....	48
3.5.2. Le Broyage	49
3.5.3. La calcination	49
3.5.4. Stockage des échantillons	49
3.5.5. Minéralisation.....	49

Sommaire

3.5.6.	Filtrations.....	49
3.5.7.	Dosage des métaux	49
4.	Calcul des indices de bioaccumulations	50
4.1.	Calcul de facteur de contamination (<i>FC</i>)	50
4.2.	Calcul d'Indice de charge de pollution (<i>ICP</i>).....	50
5.	Analyses chimiques des lichens.....	51
5.1.	Matériel végétales.....	51
5.2.	Description botanique des espèces étudiées.....	52
5.2.1.	<i>Ramalina farinaceae</i>	52
5.2.2.	<i>Evernia prunastri</i>	53
5.3.	Extraction des huiles essentielles.....	54
5.4.	Analyse chimique des huiles essentielles.....	55
5.4.1.	Chromatographie en phase gazeuse (<i>CPG</i>)	55
5.5.	Etude d'Activité antibactérienne.....	56
5.5.1.	Technique d'aromatogramme.....	56
5.5.2.	Mode opératoire	57
6.	Techniques numériques d'analyse des données.....	58
6.1.	Analyse en Composantes Principales (<i>ACP</i>)	58
6.2.	Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean (<i>UPGMA</i>).....	59
6.3.	Cartographie.....	59

Résultats et discussion

1.	Résultats de la bioindication	61
1.1.	Diversité lichénique	61
1.2.	Abondance spécifique	61
1.3.	Types physiologiques	65
1.4.	Les indices écologiques	67
1.4.1.	Indice de Shannon (<i>H'</i>)	67
1.4.2.	Indices de la pureté de l'air et de la qualité de l'air (<i>IAP</i>) et (<i>IQA</i>).....	68
1.4.3.	Indice de diversité lichénique (<i>VDL</i>).....	69
1.5.	Analyse en composantes principales (<i>ACP</i>).....	70
1.5.1.	Etude des variables.....	71
1.5.2.	Etude des individus.....	72
1.6.	Cartes de pollution	76
1.7.	Discussions	78
2.	Résultats de bioaccumulation	80

Sommaire

2.1.	Teneurs en éléments traces métalliques ETM	80
2.2.	Les indices de bioaccumulation.....	82
2.2.1.	Indice de charge de pollution (ICP)	82
2.3.	Analyse en Composantes Principales (ACP)	83
2.3.1.	Etude des variables.....	84
2.3.2.	Etude des individus.....	86
2.4.	Cartographie.....	91
2.4.1.	Chrome (Cr)	92
2.4.2.	Nickel (Ni)	93
2.4.3.	Fer (Fe).....	94
2.4.4.	Cuivre (Cu) et Zinc (Zn)	94
2.4.5.	Cobalt (Co).....	96
2.4.6.	Plomb (Pb)	97
2.5.	Discussions	97
3.	Résultats des Analyses chimiques	101
3.1.	Composition chimique des huiles essentielles de deux lichens	101
3.1.1.	Classe chimique de l'huile essentielle d' <i>Evernia prunastri</i>	104
3.1.2.	Classe chimique de l'huile essentielle de <i>Ramalina farinacea</i>	106
3.2.	Résultat microbiologique des huiles essentielles.....	107
3.3.	Discussion	108
	Conclusion et perspectives :.....	112
	Références bibliographiques.....	114
	ANNEXE :	129

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

L'un des sujets de préoccupation environnemental est la pollution atmosphérique dans le monde. Surveiller la qualité de l'environnement est primordial pour identifier tout danger potentiel pour la santé humaine ou les écosystèmes et mener les actions préventives ou curatives appropriées. Les politiques peuvent être à la fois axées sur les sources et sur les effets. Dans la plupart des pays, divers instruments de réglementation sont combinés dans un programme de contrôle coordonné. En pratique, le contrôle des polluants atmosphériques est un problème très complexe, il faut identifier les sources et les émissions, évaluer les méthodes analytiques, évaluer les risques, contrôler les émissions critiques et intégrer les aspects économiques. (Sloof, 1993; Wolterbeek and Freitas, 1999). Les mesures d'émission nécessitent un échantillonnage à long terme sur un grand nombre de sites d'échantillonnage. De telles mesures utilisant des équipements techniques ont été peu nombreuses, principalement en raison des coûts élevés et de l'absence de techniques suffisamment sensibles et peu onéreuses permettant de mesurer simultanément de nombreux contaminants de l'air (Puckett, 1988). C'est ici qu'interviennent les organismes vivants pour témoigner des conditions environnementales selon leur sensibilité. Il s'agit de biosurveillance, en utilisant les espèces végétales et animales les plus sensibles face aux polluants recherchés dans leur milieu environnant. Plusieurs approches sont proposées selon l'échelle d'observation considéré (Markert *et al.*, 2003). Ainsi, on distingue l'échelle écologique par la réponse biologique des individus (bioindication) ou des communautés (biointégration) et de l'échelle géochimique par l'accumulation de contaminant (bioaccumulation). L'intérêt de la biosurveillance pour l'évaluation de la qualité de l'environnement n'est plus à démontrer. Complémentaires des méthodes physico-chimiques, les méthodes biologiques normalisées permettent de connaître l'impact des contaminants sur le vivant, en informant sur les effets biologiques et écotoxicologiques et sur les risques pesant sur les écosystèmes.

Pour déterminer les sources atmosphériques de contaminations, différentes méthodes sont disponibles. L'une d'entre elle consiste à utiliser les lichens épiphytes comme capteurs passifs des dépôts atmosphériques. Ces capteurs présentent l'avantage de

bioaccumuler les éléments dans leurs tissus. Leur utilisation est donc peu coûteuse et permet d'étudier de larges zones géographiques.

En Algérie, le Ministère de l'Aménagement du territoire et de l'Environnement (2010) considère que le secteur des transports occupe le premier rang en termes d'émissions des polluants atmosphériques avec 51%, suivi de l'industrie avec 47,25%. Les polluants libérés dans l'atmosphère ont des effets directs et particulièrement néfastes pour la santé humaine. Ils ont été reconnus comme étant à l'origine de maladies respiratoires chroniques et parfois sévères chez les populations urbaines des grandes villes.

Ce travail se place dans un contexte de contamination atmosphérique visant à mieux caractériser les sources de pollutions à travers la biosurveillance par les lichens et en couplant les approches de bioaccumulation et de bioindication. La première cherche à estimer les dépôts atmosphériques à travers les éléments accumulés par le lichen choisi (*Xanthoria Parietina*), alors que la seconde s'intéresse aux communautés présentes en relation avec les niveaux de pollution.

Une deuxième partie de ce travail consiste à faire une caractérisation phytochimique des différents composants des huiles essentielles de deux espèces lichéniques (*Evernia Prunastri* et *Ramalina Farinacie*) et une évaluation de leurs activités antimicrobiennes.

Le présent travail thèse est subdivisé en trois chapitres :

Le premier chapitre est consacré à une revue bibliographique subdivisée en trois parties :

- La première partie traite la pollution et la contamination atmosphérique par les métaux lourds.
- La deuxième partie étudie la bio surveillance de la qualité de l'air et ses différentes répercussions.
- La troisième partie s'intéresse à l'étude des lichens et les huiles essentielles

Le second chapitre regroupe le matériel et les méthodes utilisées dans cette étude.

Dans le troisième chapitre sont présentés et discutés les résultats obtenus.

La thèse se termine par une conclusion qui résume les principaux résultats.

Chapitre I :

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Pollution atmosphérique

La pollution atmosphérique est un problème majeur auquel toutes les nations sont confrontées. Elle est causée par des produits chimiques émis dans l'air à partir de sources naturelles ou anthropiques. Les émissions provenant de sources naturelles, telles que les plantes, la décomposition radiologique, les incendies de forêt, les éruptions volcaniques et les émissions provenant du sol et de l'eau, entraînent des niveaux de pollution de fond naturels qui varient en fonction de la source d'émission locale et des conditions météorologiques (Ahluwalia and Kidwai, 2004).

L'homme est responsable de la pollution de l'air, cette pollution, a augmenté rapidement depuis le début de l'industrialisation. Les informations sur la qualité de l'air et le savoir comment et pourquoi l'atmosphère devient polluée permet l'amélioration des décisions qui conduisent à une atmosphère beaucoup plus propre (Vallero, 2014).

Plusieurs définitions ont été attribuées au terme "Pollution Atmosphérique". En Algérie, elle est définie, dans l'article 3 de la loi 03-10 du 19 juillet 2003 relative à la protection de l'environnement dans le cadre du développement durable, comme suit : «L'introduction de toute substance dans l'air ou dans l'atmosphère provoquée par l'émanation de gaz, de vapeurs, de fumées ou de particules liquides ou solides susceptibles de porter préjudice ou de créer des risques au cadre de vie, à la santé ou à la sécurité publique ou à nuire aux végétaux, à la production agricole et aux produits agroalimentaires, à la conservation des constructions et des monuments ou au caractère des sites».

Le conseil Européen en 1967a défini comme polluant atmosphérique toute substance étrangère ou dont la variation du taux dans l'atmosphère est susceptible de provoquer un effet nuisible, compte tenu des connaissances scientifiques du moment, ou de créer, une gêne (Elichegaray, 2008).

1.1. Origine de la pollution atmosphérique

La présence de contaminants dans le compartiment atmosphérique nécessite obligatoirement l'émission de substances qui contribue à modifier localement (source ponctuelle) ou globalement (source diffuse) la composition chimique de l'atmosphère. Au sein de ces émissions, (Gombert *et al.*, 2005):

- les **sources naturelles** : activité volcanique, érosion éolienne ou marine (embruns marins) sont autant de sources naturelles pouvant modifier les caractéristiques physico-chimiques de l'atmosphère,

- les **sources anthropiques** : de nombreuses activités humaines sont capables d'émettre diverses substances, principalement au niveau des grands centres urbains (industrie, trafic routier, production énergétique...), des zones d'exploitation minière, d'extraction et des secteurs à forte productivité agricole.

1.2. Transferts de contaminants dans l'atmosphère

Au niveau de la troposphère et plus particulièrement au sein de sa couche limite, se manifestent les phénomènes de pollution atmosphérique, principalement dans la plus basse couche de l'atmosphère. Le transfert des contaminants au sein du compartiment atmosphérique s'opère à partir d'un équilibre entre entrées (émissions) et sorties (dépôts). Au sein de ce même compartiment, la diffusion est assurée par le transport atmosphérique et de nombreuses réactions participent aux transformations des polluants primaires vers des polluants secondaires (Deletraz, 2002; Delmas *et al.*, 2005) (Figure1).

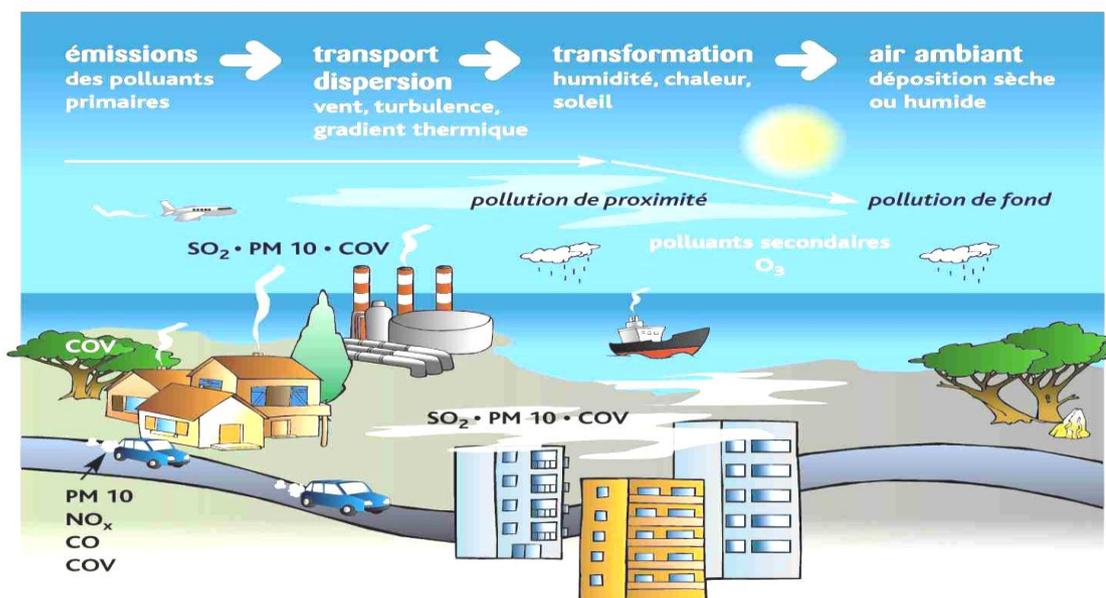


Figure 1 : Transfert des polluants atmosphériques

La pollution atmosphérique dépend des émissions de polluants primaires dans l'air. Ils sont directement reliés à leurs sources qui peuvent être soit diffuses (circulation automobile), ou ponctuelles (installations industrielles, chauffage résidentiel).

La qualité de l'aire à proximité des sources d'émissions est fortement affectée. Des processus mécaniques et chimiques vont régir dès que les polluants sont libérés et diffusés dans l'atmosphère par l'intermédiaire de vents, turbulences ou de gradients thermiques. A cette étape, les polluants vont progressivement s'éloigner de la source d'émission. La distance de déplacement des polluants dépend de leur durée de vie. Plus la durée de vie d'un polluant est

longue, plus il pourra se déplacer sur de longues distances (Elichegaray, 2008; Sportisse, 2008).

Les polluants primaires libérés dans l'atmosphère peuvent subir une série de transformations chimiques conduisant à la formation de pollution secondaire. La transformation des polluants primaires se forme en présence d'autres polluants et sous l'action du rayonnement solaire, de la chaleur, ou de l'humidité. Ce processus est plus caractéristique des pollutions estivales et printanières, comme dans le cas de la pollution à l'ozone ou de certaines particules (Rosman *et al.*, 1994; Wolff *et al.*, 1999; Lee *et al.*, 2008).

La phase de dépollution intervient en dernier lieu et correspond au dépôt des polluants sous deux formes : secs ou humides (Koffi, 2002; Delmas *et al.*, 2005; Elichegaray *et al.*, 2010).

- **Les dépôts secs** correspondent aux retombées au sol des polluants gazeux ou particulaires sous l'effet de la diffusion, des turbulences atmosphériques ou de la gravité. Le temps de séjour des polluants dans l'air est très variable et dépend de leurs caractéristiques physico-chimiques. Par exemple, les particules de taille inférieure au micromètre, peuvent rester plusieurs semaines dans l'atmosphère.

- **Les dépôts humides** englobent, quant à eux, les retombées de polluants se faisant sous l'action des précipitations (pluies, neige, brouillard...). Lors de la tombée des précipitations, celles-ci vont lessiver l'atmosphère en interceptant et entraînant les particules au sol. On estime qu'environ un tiers des polluants présents dans l'atmosphère retourne au sol sous cette forme.

1.3. Contamination atmosphérique en éléments traces

Le terme *Éléments Traces Métalliques* « ETM » désigne les éléments de la classification périodique formant des cations en solution. Ce sont des éléments métalliques naturels, métaux ou dans certains cas métalloïdes (environ 65 éléments), caractérisés par une forte masse volumique supérieure à 5 g/cm³ (Adriano, 2001).

L'organisation mondiale de la santé (O.M.S, 1997) désigne sous le nom de métaux lourds l'ensemble des métaux présentant un caractère toxique pour la santé et l'environnement.

Les métaux lourds sont présents dans tous les compartiments de l'environnement, mais en général en quantités très faibles. On dit que les métaux sont présents « en traces ». Certains sont indispensables au déroulement des processus biologiques des végétaux et des animaux à des quantités infinitésimales, ils sont alors nommés « Oligo-éléments », nécessaires à la vie en très faible quantité (Pacyna and Pacyna, 2001; Duffus, 2002; Bliefert and Perraud, 2008) Les

métaux lourds sont non biodégradables et persistants dans l'environnement pendant de longues périodes, provoquant ainsi des problèmes éco-toxicologiques graves (Nriagu, 1989). Les ETM sont dangereux, car ils ont tendance à se bio-accumuler. La bio-accumulation des métaux dépend de la quantité totale, de la biodisponibilité de chacun des métaux dans le milieu et de la voie et les mécanismes de captation, de stockage et d'excrétion (Adriano, 2001).

1.3.1. Origine des métaux lourds

La plupart des métaux sont présents naturellement à l'état de traces dans le fond géochimique (sols, eaux), des quantités plus ou moins importantes sont également émises dans l'air par des sources d'émission naturelle ou liées aux activités humaines. Deux catégories principales de sources atmosphériques de métaux sont distinguées (Pacyna, 1986; Nriagu, 1989; Pacyna and Pacyna, 2001).

La première catégorie représente les sources d'origine naturelle comme : les volcans (ex : As, Ni, Hg, Zn), l'érosion de la croûte terrestre (ex : Si, Al, As, Cr, Fe, Ni, V), les feux de forêt (ex : Zn) et les embruns marins (ex : Hg, Na, Cl). Tandis que la deuxième catégorie concerne les sources d'origine anthropique qui sont majoritairement présentes en régions industrialisées et urbanisées. Ainsi, des éléments tels que : As, Cd, Cu, Pb ou Zn peuvent y être fortement concentrés. Ces sources dues à la combustion des fossiles, le pétrole et charbon dans l'industrie, le chauffage, (ex : As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn), l'extraction de minerais, (ex : As, Fe, Ni, V...), la métallurgie (industries du fer et de l'acier, (ex : Pb, Cd, Ni)); des métaux non ferreux, (ex : As, Cd), l'incinération des déchets ménagers (ex : Hg, Pb, Cd...), les engrais et pesticides (ex : Cd, Cu, As, Hg...) le transport: trafic automobile (Cd, Cu, Fe, Ni, Pb et Zn), batteries automobile (Cd, Ni, Pb...), érosion des plaquettes de freins (Cu, Sb), . (Tableau 1).

Tableau1 : Sources de contamination en métaux lourds de l'environnement

Source	Eléments courants	Références
Industrie		
affleurements de minerai	Zn, Pb, Cu, Cd, Ni	(Pacyna and Pacyna, 2001)
fonderies de métaux	Zn, Cu, Cd, Pb, Sn, Ni	
hauts-fourneaux	Fe, Zn, Mn	
électrolyse	Hg	
industrie du ciment	TI	
Trafic routier		
<ul style="list-style-type: none"> • essence au plomb • catalyseurs • émissions de métaux issus de pneumatiques 	<ul style="list-style-type: none"> • Pb • Al, Pt, Rh, Pd • Ni, Cd, In 	(Harmens <i>et al.</i> , 2010)
Emissions des ménages		
<ul style="list-style-type: none"> • déchets • boues d'épuration 	<ul style="list-style-type: none"> • Cd, Pb, Cu, Zn, Ni • Cd, Pb, Cu, Zn, Ni 	(Rühling, 1994)
sources de l'énergie		
<ul style="list-style-type: none"> • centrale de combustion du charbon • combustion de pétrole • centrales nucléaires • lignes à haute tension 	<ul style="list-style-type: none"> • Se, B, Mn, Cd • V, Ni • U, Cs, Pu • CU, In 	(Pacyna, 1986)
Agriculture		
<ul style="list-style-type: none"> • additifs alimentaires • engrais • pesticides 	<ul style="list-style-type: none"> • Cu, In • Cd • Cu, Hg, As, Sn, Cl 	(Pacyna and Pacyna, 2001)

1.3.2. Les ETM les plus répondus

1.3.2.1. Le Plomb (Pb)

Le plomb est moyennement abondant dans la croûte terrestre où sa concentration moyenne est comprise entre 10 et 20 mg/kg. Dans le minerai, le plomb est souvent associé à l'argent et au zinc. L'antimoine, l'arsenic, le cuivre sont d'autres éléments fréquemment présents dans les minerais de plomb (Adriano, 2001).

Les apports naturels de plomb dans l'environnement ne représentent qu'environ 4% des émissions totales et se font essentiellement sous forme inorganique (Nriagu, 1978, 1979). Les émissions de cet élément sont notamment liées à des activités anthropiques, l'industrie

minière, la métallurgie et la sidérurgie représentant environ 80% des émissions de Pb dans l'environnement (Fergusson, 1990).

1.3.2.2. Le Cuivre (Cu)

La concentration de cuivre dans l'écorce terrestre est estimée à environ 70 mg/kg (Bradl, 2005). Le transport par le vent des poussières de sol, les éruptions volcaniques, les décompositions végétales, les feux de forêts et les aérosols marins constituent les principales sources naturelles d'exposition (Pacyna, 1986). Les principales sources anthropiques sont l'industrie du cuivre et des métaux en général, l'industrie du bois, l'incinération d'ordures ménagères, la combustion de charbon, d'huile et d'essence et la fabrication de fertilisants (phosphate) (Pacyna and Pacyna, 2001).

1.3.2.3. Le Fer (Fe)

Le fer est le 4^{ème} élément le plus abondant dans la croûte terrestre avec environ 3,5 % (Bradl, 2005). L'utilisation du fer est largement appliquée sous forme d'acier dans la construction. Mais, Fe est aussi utilisé dans l'industrie technologique sous forme de fer métallique. Il est probablement le métal le plus largement utilisé avec des applications aussi diverses que variées (matériaux de construction, équipements industriels, équipements électriques...). Il est préférentiellement utilisé sous forme d'alliages dont le plus utilisé est l'acier (mélange de Fe et de carbone) (Nriagu, 1979).

1.3.2.4. Le Zinc (Zn)

Le zinc est le 23^{ème} élément par ordre d'abondance dans la croûte terrestre avec une teneur de 70 mg/kg (Bradl, 2005). 25 % de ses émissions sont naturelles (érosion de la croûte terrestre, volcanisme et feux de forêts) (Nriagu, 1989). Les apports anthropiques peuvent se diviser en trois groupes d'activités majeures. L'agriculture, l'urbanisation et les sources industrielles et/ou minières (Pacyna and Pacyna, 2001).

1.3.2.5. Le Cobalt(Co)

Parmi les éléments le plus abondant dans la lithosphère avec 10 mg/kg en moyenne (Bradl, 2005). Les sources anthropiques majeures du Co sont l'exploitation de charbon et l'activité minière (associé à Cu et Ni). Les utilisations principales de cet élément sont la coloration, la fabrication de divers alliages résistants aux hautes températures et à l'usure, la conception de catalyseurs et de batterie (Nriagu, 1979).

1.3.2.6. Le Chrome (Cr).

Naturellement présent sous forme de minerais liés à Fe ou à Mg (chromite), en moyenne, 35 mg/kg dans la croûte terrestre, les particules minérales sont la première source naturelle (17 %) (Nriagu, 1989). Les sources anthropiques majoritaires sont l'exploitation de ces minerais, l'utilisation d'engrais phosphatés ou la combustion de charbons. Ses qualités physiques conduit son utilisation dans de nombreux alliages, en particulier pour les aciers inoxydables (plusieurs dizaines de pourcents de Cr). Le chrome est utilisé comme colorant et pour la catalyse. L'industrie du cuir et du textile sont également des sources de Cr (Cr^{3+} et Cr^{6+}) et l'industrie chimique augmente les émissions de Cr^{6+} (Bouchereau, 1992).

1.3.2.7. Le Nickel (Ni)

Le nickel est, par ordre d'abondance, le 22^{ème} élément dans la croûte terrestre avec une teneur de 20 mg/kg (Bradl, 2005). Il se retrouve souvent associé aux minerais de Fe, Co, Cu et Cr. Il est fréquemment utilisé sous forme de sulfures et d'oxydes. 35 % des émissions sont naturelles, majoritairement par les particules terrigènes, et par le volcanisme, la végétation et les embruns marins (Nriagu, 1989). Les principales utilisations anthropiques de Ni se font sous la forme d'alliages lui conférant des nouvelles propriétés, en particulier pour la fabrication d'aciers inoxydables (pour la grande distribution) et réfractaires (pour l'industrie). Il est de l'ordre de la dizaine de pourcentage dans ce type de matériaux. Ces alliages sont utilisés dans beaucoup d'appareils électroménagers et d'équipements médicaux (Nriagu, 1979).

1.3.3. Transport et dépôt des ETM

Le compartiment atmosphérique joue un rôle majeur dans la dispersion des métaux. Dans l'atmosphère, la plupart des éléments métalliques se trouvent associés à des aérosols, c'est-à-dire à des particules liquides et/ou solides en suspension dans l'air (Gombert *et al.*, 2005). Les aérosols sont d'excellents porteurs de substances peu volatiles nuisibles à l'environnement, se sont des composés toxiques comme les métaux lourds, qui se trouvent dans les poussières le plus souvent sous forme d'oxydes, de silicates, de sulfures, de sulfates, de nitrates, de phosphates ou d'halogénures (Bliefert and Perraud, 2001). Ces particules sont transportées avec un temps de résidence plus ou moins long avant de retomber au sol. La taille, la forme et la composition chimique des particules influencent fortement leur dispersion et leur durée de séjour dans l'atmosphère (Pacyna and Pacyna, 2001).

1.3.4. Effets des ETM sur l'environnement

Les dépôts d'origine atmosphérique sont, pour les écosystèmes naturels, une charge supplémentaire par rapport aux teneurs naturelles du fond géochimique (sols, eaux) (Gombert *et al.*, 2005). L'exposition à un polluant atmosphérique comme les métaux lourds est connue pour provoquer des effets dommageables, à court ou à long terme, aux systèmes vivants (écosystème terrestre et aquatique) ou à des matrices inertes (patrimoine bâti, matériaux) (Pacyna and Pacyna, 2001).

D'une manière générale, tous les végétaux et les groupes voisins sont des accumulateurs de métaux, qu'ils soient aquatiques (algues) ou terrestres (lichens, mousses, végétaux supérieurs...) (Bargagli, 1998). Premier maillon des chaînes alimentaires, les végétaux sont le point de départ du transfert des métaux dans ces chaînes et peuvent ensuite se concentrer de manière parfois importante dans les niveaux trophiques supérieurs (bioamplification) (Ramade, 2007).

La pollution atmosphérique peut avoir des effets sur le fonctionnement des écosystèmes, aussi bien au niveau de la faune que de la flore. Les métaux lourds s'accumulent dans les organismes vivants et perturbent les équilibres et mécanismes biologiques (Miquel, 2001).

En ce qui concerne les végétaux, les particules métalliques d'origine atmosphérique peuvent agir de différentes façons: elles peuvent causer des abrasions, réduire la photosynthèse, causer des blessures sur les feuilles ou encore s'intégrer à travers la cuticule (Grantz *et al.*, 2003). L'absorption métabolique via la rhizosphère est une autre voie probable et a un impact sur la végétation et les écosystèmes. Le dépôt direct de particules sur le sol peut influencer le cycle nutritif et avoir des effets sur les bactéries et les champignons de la rhizosphère. La biodisponibilité de cations alcalins et d'aluminium est dépendante du pH du sol qui peut être modifié de façon spectaculaire par des dépôts de particules de diverses classes (Grantz *et al.*, 2003).

De fortes contaminations atmosphériques en polluants ont été atteintes lors de la révolution industrielle, avec des conséquences visibles sur les végétaux (Chovin and Roussel 1968). En effet, certains polluants peuvent revêtir pour les végétaux une gravité particulière : ce sont essentiellement le chlore et l'acide chlorhydrique qui provoquent des lésions analogues à celles de la gelée, l'arsenic par déversement d'anhydride arsénieux, le zinc, et enfin les poussières de ciment de chaux ou de silice, capables de détruire toute végétation (Chovin and Roussel 1968).

1.3.5. Effets sur la santé humaine

Les métaux sont connus pour leurs effets sur la santé humaine. Parmi les voies de pénétration dans l'organisme (inhalation de l'air, ingestion de nourriture ou d'eau, contact dermique), l'inhalation est le principal mode de contamination, les particules les plus fines chargées en métaux pouvant pénétrer plus profondément dans les voies respiratoires (Baulig *et al.*, 2004).

Les métaux ont des effets aigus sur la physiologie, ce qui entraîne notamment des perturbations des systèmes respiratoire, digestif et rénal, et provoque des troubles neurologiques graves ou des lésions de la peau (Wright and Welbourn 2002). Une exposition de courte durée par exemple à de fortes concentrations en cadmium (poussières ou fumées) est irritante pour les cellules du système respiratoire et gastro-intestinal.

Une durée d'exposition à de faibles niveaux, si elle est chronique, peut aussi avoir de graves répercussions sur la santé. Le plomb, l'arsenic, le nickel et le cadmium ont des propriétés cancérigènes (Reichl and Perraud, 2010) . Dans le cas du plomb, l'intoxication la plus courante est liée à une exposition chronique. Le plomb s'accumule alors dans le sang (plombémie) et bloque plusieurs enzymes nécessaires à la synthèse de l'hémoglobine. Chez l'homme, comme chez les autres organismes vivants, la toxicité des métaux varie en fonction des éléments métalliques, de leur mode de pénétration dans l'organisme, et de leur forme chimique (spéciation) (Gombert *et al.*, 2005). L'arsenic est plus toxique sous forme libre qu'associé à des molécules organiques, et le mercure plus toxique sous sa forme organométallique de méthylmercure. Une intoxication par du méthylmercure suite à une ingestion de poissons contaminés fut ainsi à l'origine d'une épidémie grave dans les années 1950 dans la baie de Minamata au Japon (Miquel, 2001).

2. La biosurveillance de la qualité de l'air

Il existe de nombreuses études traditionnelles sur la qualité de l'air. Malheureusement, la plupart sont limitées par des problèmes de coûts élevés et par la difficulté d'effectuer un échantillonnage approfondi, dans le temps et dans l'espace. Pour surmonter ces difficultés, l'utilisation de méthodes de surveillance indirectes telles que l'analyse d'organismes bioaccumulateurs s'avère nécessaire (Fernández *et al.*, 2000). Les bio-indicateurs sont utilisés dans de nombreux aspects des recherches environnementales, la bio surveillance demeurera toujours la seule approche capable d'évaluer des effets biologiques d'une altération de l'environnement (Van Haluwyn *et al.*, 2011). Elle est également de plus en plus intégrée aux méthodologies d'évaluations des risques sanitaires et écologiques et constitue un outil d'information du grand public et d'aide à la décision dans les politiques publiques (Cuny, 2012.). Cette approche n'est donc pas substitutive des techniques physico-chimiques de surveillance, mais intervient en complément de celles-ci (Cuny *et al.*, 2008).

2.1. Les concepts de la biosurveillance

La biosurveillance est définie comme « l'utilisation des réponses à tous les niveaux d'organisation biologique (moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique, tissulaire, morphologique, écologique) d'un organisme ou d'un ensemble d'organismes pour prévoir et/ou révéler une altération de l'environnement et pour en suivre l'évolution ». (Van Haluwyn *et al.*, 2011) Sous ce vaste champ de biosurveillance, les auteurs ont intégré quatre concepts biomarqueur, bio-indicateur, bio-intégrateur et bio-accumulateur (Van Haluwyn *et al.*, 2011).

2.1.1. Le bio-indicateur

La bioindication se situe au niveau individuel et fournit des informations sur les impacts environnementaux. Elle se fonde sur l'observation des effets visibles des pollutions sur un organisme, une partie d'un organisme ou une communauté d'organisme (Cuny, 2012.). Ces effets sont observables au niveau morphologique, tissulaire ou physiologique. Il s'agit par exemple de l'apparition de nécroses foliaires ou la modification de la croissance racinaire (Silva *et al.*, 2012). Son utilisation ne concerne, d'une part, que des polluants fortement phytotoxiques ou présents à des concentrations élevées et, d'autre part, que des végétaux sensibles. On pourra l'utiliser à la fois en approches passive et active. De simples observations permettent d'estimer les niveaux de pollution dans l'air (Markert *et al.*, 2003).

2.1.2. Le biomarqueur

L'utilisation de biomarqueurs permet de caractériser un « changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique qui révèle l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant » (Lagadic *et al.*, 1997).

Un biomarqueur caractérise un effet de stress précoce, non visible et spécifique au niveau infra-individuel. Concept le plus récent dans le domaine de la biosurveillance végétale et encore en développement important. L'utilisation de biomarqueurs repose par exemple sur le suivi de la fluorescence de la chlorophylle, de l'activité photosynthétique (Catalyud and Barreno, 2004), des dosages d'enzymes (Rai and Agrawal, 2008), de l'intégrité membranaire (Rzepka and Cuny, 2011).

2.1.3. Le bio-intégrateur

La biointégration permet d'évaluer les effets à long terme sur les communautés par l'étude de la densité et de la diversité spécifique de populations au sein d'écosystèmes. Les organismes sentinelles utilisés sont généralement les végétaux supérieurs, les bryophytes et les lichens (Takahashi and Miyajim, 2010). Autour de certaines sources de pollution atmosphérique, il est parfois difficile de mettre en évidence des polluants à partir de leurs seuls effets morphologiques ou tissulaires, voire même de leur accumulation. D'autre part, les modifications biologiques provoquées par des polluants peu concentrés se distinguent difficilement des fluctuations naturelles. Il est donc important de mesurer les effets au niveau des communautés, de manière à infirmer ou à confirmer les observations faites au niveau infra-individuel et individuel (Markert *et al.*, 2003).

2.1.4. Le bio-accumulateur

La bioaccumulation est certainement le volet le plus connu de la biosurveillance (Markert *et al.*, 2003). De nombreux organismes, animaux comme végétaux ont été utilisés comme bioaccumulateurs (Bargagli, 1998). La bioaccumulation se fonde sur la capacité de certains organismes à accumuler les polluants à une concentration supérieure à celle observée dans l'air. Dans ce cas, les polluants et leurs concentrations doivent être déterminés, après extraction, à l'aide de techniques analytiques (Cuny *et al.*, 2008).

plusieurs végétaux sensibles ont été développés pour la surveillance de divers polluants : SO₂ par les lichens (Hawksworth and Rose 1970), O₃ par le tabac (Garrec and Livertoux, 1997),

métaux par les mousses (Berg and Steinnes, 1997b), radionucléides par les lichens (Ellis and Smith, 1987), hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) par le chou (Kipopoulou *et al.*, 1999). les écorces ont fréquemment été employées en biosurveillance des éléments traces métalliques (Berlizov *et al.*, 2007; Catinon, 2010).

2.2. Les approches de la biosurveillance.

La biosurveillance de la qualité de l'air est utilisée de deux méthodes différentes selon les situations auxquelles on est confronté.

2.2.1. La méthode *in situ*

C'est une approche intégrée ou passive : cette approche est basée sur l'observation des organismes présents naturellement dans l'environnement étudié. C'est une méthode rapide, Elle est principalement utilisée pour observer les impacts à long terme, en tenant compte des conditions écologiques et climatiques (Conti and Cecchetti, 2001; Garrec and Van Haluwyn, 2002).

Plusieurs études sur les lichens ont utilisé cette approche

2.2.2. La méthode des transplants

Basée sur l'introduction dans le site d'organismes, elle est principalement utilisée pour observer les impacts à court terme dans des conditions d'exposition spécifiques (Garrec and Van Haluwyn, 2002). La transplantation est une technique expérimentale où les organismes utilisés sont transférés d'un environnement non pollué vers un site pollué. Cette méthode permet de pallier l'absence d'espèces utilisables dans la zone d'étude (niveau de pollution trop élevé, absence d'habitats du fait de l'urbanisation, de l'industrialisation ou de l'altitude) (Cuny *et al.*, 2008).

3. Les lichens

Les espèces lichéniques représentent plus de 20 % de la biodiversité mondiale. Grâce à leur symbiose, les lichens se trouvent dans certains environnements les plus extrêmes, tels que la toundra arctique, les déserts chauds, les côtes rocheuses, les terrils toxiques (Nash and Thomas, 2008). Il existe environ 18 500 espèces de lichens (Feuerer and Hawksworth, 2007). En Algérie environ 1085 espèces de lichens sont identifiés (Ait Hammou *et al.*, 2014).

Les lichens forment un groupe de végétaux appartenant aux cryptogames (Nash and Thomas, 2008). Ils sont les Thallophytes. Ils résultent d'une association symbiotique entre un champignon (mycobionte) et une algue (photobionte) (Van Haluwyn *et al.*, 2009). Leur thalle ou appareil végétatif présente une morphologie originale par rapport à celle des algues et des champignons qui le composent (Van Haluwyn and Lerond, 1993). Environ 85% des photobiontes sont des algues vertes et 10% sont des cyanobactéries, et dans 5 % des cas, on trouve simultanément à la fois, une algue et une cyanobactérie associés à un champignon (Lichen tripartite) (Honegger, 2012). Un lichen est une structure autonome, l'association lichénique apporte des propriétés que les deux partenaires n'ont pas individuellement (Markert *et al.*, 2003).

3.1. Les partenaires de la symbiose lichénique

3.1.1. Le Mycobionte

Les champignons responsables de la formation de lichens sont appelés mycobiontes de lichens. Le champignon ou mycosymbiote joue un rôle dans la symbiose lichénique du fait qu'il protège les cellules algales contre la dessiccation, grâce à ses hyphes qui sont en relation directe avec l'atmosphère et le substrat, ils captent l'eau et les sels minéraux qu'il transfère vers le photosymbiote (Van Haluwyn *et al.*, 2009). Dans 99 % des cas, le mycobionte fait partie des ascomycètes; le lichen est alors appelé ascolichen (Feuerer and Hawksworth, 2007). Lorsqu'il s'agit d'un basidiomycète, le lichen est nommé basidiolichen. Chez les basidiomycètes, la lichénisation est un processus assez rare (de 1 à 2 % des lichens sont des basidiomycètes) (Honegger, 2008)

3.1.2. Le Photobionte

Les partenaires algales qui réalisent la photosynthèse sont nommées photobiontes ou photosymbiotes. Dans 90% des cas, il appartient à la classe des chlorophycées (ou algues vertes) (Van Haluwyn *et al.*, 2009). Près de 40 genres d'algues et de cyanobactéries ont été

rapportés comme photobiontes dans les lichens *Trebouxia*, *Trentepohlia* et *Nostoc* sont les photobiontes les plus fréquents (Friedl and Büdel. B., 2008).

3.2. Echanges nutritionnels entre les partenaires

Chacun des deux partenaires tient un rôle important dans la survie de l'autre. Le champignon reçoit de l'algue, capable de photosynthèse, divers produits organiques tels les sucres, alors qu'il l'emprisonne totalement dans ses filaments et la protège ainsi contre une lumière trop intense et contre la dessiccation d'une chaleur trop élevée (Jahns, 2007). Il est possible également que le champignon facilite l'alimentation en eau de l'algue et apporte du CO₂ par sa respiration (Van Haluwyn *et al.*, 2009). Ensemble, le champignon et l'algue peuvent vivre dans des conditions défavorables qui empêchent l'un et l'autre de se nourrir tout seul, ceci est un avantage déterminant du point de vue biologique et on parle alors d'une symbiose trophique ou alimentaire (Jahns, 2007)(Figure 2).

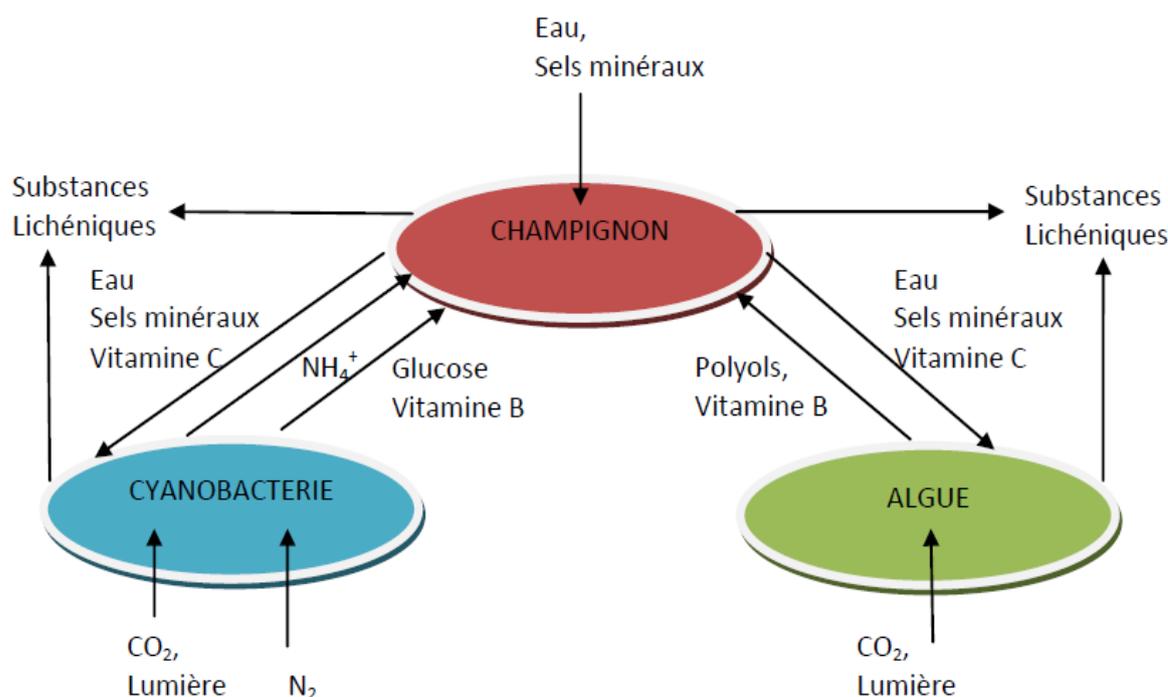


Figure 2 : Échanges nutritionnels entre les partenaires des lichens (Van Haluwyn *et al.*, 2009).

3.3. Structure anatomique des lichens

A l'intérieur du thalle lichénique, la disposition des différents constituants ne se fait pas au hasard, mais suit des règles bien précises. Leur structure anatomique est très uniforme et assure leur unité. Il existe deux grands types de structures (Aprile *et al.*, 2011) (Figure 4):

3.3.1. Structure homéomère

Cette structure est dite de type "homéomère" car le champignon et la cyanobactérie sont entremêlés de façon homogène dans toute l'épaisseur du thalle Comme chez les Collema.

3.3.2. Structure hétéromère

C'est une structure dans laquelle le mycobionte constitue le partenaire dominant de la symbiose lichénique et c'est donc lui qui organise cette structure. Il s'agit d'une structure où le champignon d'une part et l'algue d'autre part forment des couches (ou strates) individualisées. Par exemple, chez *Lecidella elaeochroma*.

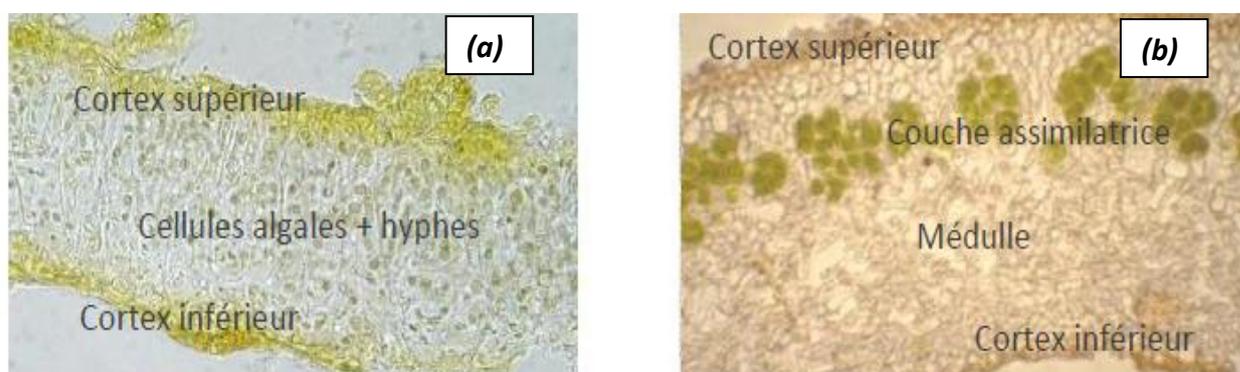


Figure 4 : Structure anatomique des lichens : structure homéomère (a) ; structure hétéromère (b) (Aprile *et al.*, 2011).

3.4. Morphologie des lichens

Le lichen possède un appareil végétatif rudimentaire : le thalle (ne possède ni feuilles, ni tiges, ni racines). La morphologie du thalle lichénique est fortement influencée par le mycobionte. L'étendue et la variété des terrains accessibles aux lichens ont entraînés au niveau du thalle, une grande diversité de formes et de couleurs (Van Haluwyn *et al.*, 2009). Les thalles des lichens sont classés en 7 types morphologiques fondamentaux, chacun pouvant comporter des aspects plus ou moins divers et parfois des formes de transition avec d'autres types (Clauzade and Roux, 1985).

3.4.1. Les thalles crustacés

Plus de 80 % des lichens ont des thalles crustacés ayant l'aspect de « croûte ». Les thalles crustacés sont généralement très adhérents au substrat dans lequel ils pénètrent plus ou moins profondément pour en être difficilement dissociables (Figure 3a) (Büdel and Scheidegger 2008).

3.4.2. Les thalles foliacés

Selon (Van Haluwyn and Lerond, 1993), les thalles foliacés sont des thalles en forme de feuilles donnent des lames plus aux moins lobées facilement détachables du substrat auquel elles sont parfois fixées par des rhizines. Certains thalles foliacés n'adhèrent au substrat que par une petite zone (crampon) souvent située au centre de la face inférieure, et la face supérieure présente une légère dépression (ombilic); ce sont les thalles foliacés ombiliqués (Figure 3b).

3.4.3. Les thalles fruticuleux

Ce sont des thalles en lanières ou tiges plus ou moins ramifiées, dressées ou pendantes et ils s'ancrent à leur substrat par une surface réduite (Figure 3c) ils prennent soit une forme de tiges cylindriques ou branches ramifiées comme chez le genre *Usnea*, soit une forme de lanière ou d'une feuille allongée comme chez le genre *Ramalina*. Les deux faces des lanières sont généralement de la même couleur, sauf pour quelques espèces comme *Evernia prunastri* (Clauzade and Roux, 1985).

3.4.4. Les thalles squamuleux

Les thalles squamuleux sont constitués de petites squamules ou écailles, de plus de 1,5 mm, qui se chevauchent partiellement. La partie de l'écaille décollée du substrat commence à différencier un cortex inférieur. Ces thalles sont intermédiaires entre les thalles crustacés et les thalles foliacés (Figure 3d) (Büdel and Scheidegger 2008).

3.4.5. Les thalles composites

Ils sont formés de deux parties bien distinctes ; le thalle primaire crustacé, squamuleux ou rarement foliacé, et le thalle secondaire fruticuleux (Figure 3e) (Büdel and Scheidegger 2008)

3.4.6. Les thalles gélatineux

Essentiellement sont des cyanolichens. Leur aspect varie selon l'humidité, noir et cassant à l'état sec et a une consistance gélatineuse lorsqu'ils sont hydratés. La morphologie du thalle peut être crustacée, foliacée, fruticuleuse ou squamuleuse (Figure 3f) (Van Haluwyn and Lerond, 1993).

3.4.7. Les thalles lépreux

Les thalles lépreux sont formés de minuscules granules, de 0,1 à 0,2 mm, sont pulvérulents et se détachent aisément de leur substrat (Figure 8g) (Van Haluwyn *et al.*, 2009).

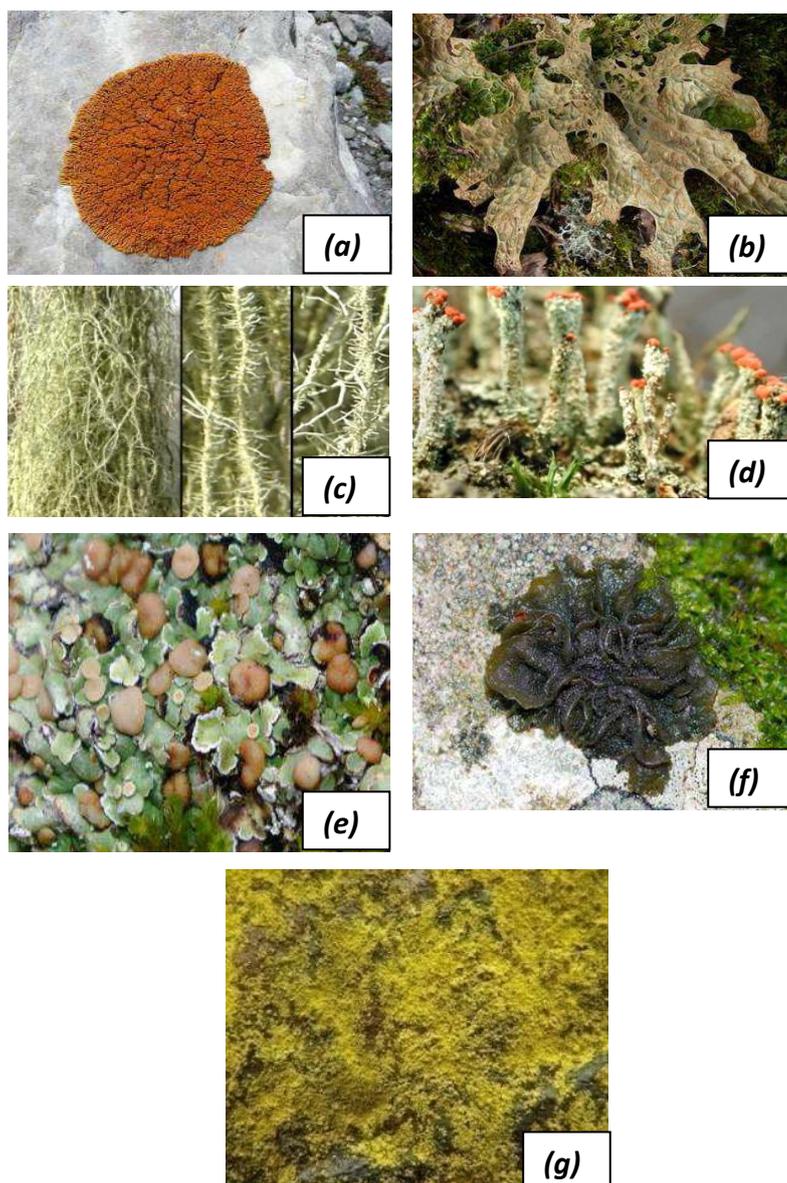


Figure 3 : Principaux types de thalles lichéniques: (a) Thalle crustacé de *Caloplaca* ; (b) Thalle foliacé de *Lobaria* ; (c) Thalle fruticuleux de *Usnea* ; (d) Thalle complexe de *Cladonia* ; (e) Thalle squamuleux de *Squamarina* ; (f) Thalle gélatineux de *Collema* ; (g) Thalle lépreux de *Chrysothrix* ; (h)

3.5. Reproduction des lichens

Les lichens sont des organismes cryptogames, ce qui signifie que leurs organes reproducteurs sont « cachés ». Deux modes de reproduction peuvent être observés chez les lichens (végétative et sexuée) (Büdel and Scheidegger 2008).

La reproduction sexuée ne fait intervenir que le champignon. Elle s'opère via l'apothécie, la lirelle et le périthèce (Figure 5 a, b et c). Celles-ci produisent les spores qui, émises dans l'air, se développeront après la rencontre avec une algue appropriée.

La reproduction asexuée fait intervenir deux structures particulières : les soralies (amas poudreux libérant des soredies) et des isidies (excroissances du thalle) (Figure 5 d et e). Ces fragments lichéniques sont transportés par le vent et peuvent, en conditions favorables, coloniser de nouveaux milieux.

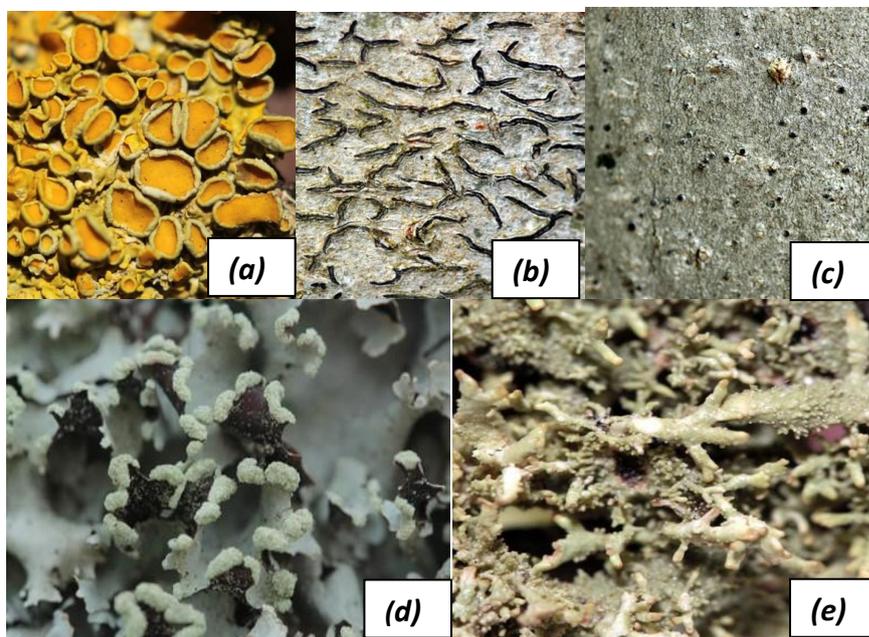


Figure 5 : Organes reproductifs des lichens : (a) apothecies, (b) lirelles, (c) perithecies, (d) soralies, (e) isidies (Agnan. ; 2013)

3.6. Croissance des lichens

Les lichens poussent assez lentement et ont une longue durée de vie. Pour la vitesse, les crustacés ont une croissance de 2 à 3 millimètres par an et les autres types (foliacés et fructiculeux), moins fortement fixés au substrat, ont une croissance plus rapide, entre 3 et 4 centimètres par an (Collombet, 1989). Et en ce qui concerne la longévité, les thalles fructiculeux et composites atteignent au minimum 10 ans d'âge et les thalles crustacés, tel le *Rhizocarpon*, peuvent même atteindre ou dépasser le siècle (Jahns, 2007).

3.7. Ecologie des lichens

Les lichens sont répandus sur toute la planète terre. S'installant dans des déserts arides, mais également dans des régions polaires (où certaines espèces peuvent résister à des températures extrêmes de -40°C) (Larson, 1978). Les lichens jouent un rôle écologique majeur d'organismes pionniers, ils s'installent sur n'importe quel support où ils constituent souvent la première matière organique, initiant ainsi les premiers jalons de la chaîne alimentaire

(Lipnicki, 2015). Les lichens sont capables de coloniser la roche la plus dure, le sol le plus désert, de supporter de très grosses variations de température, des taux d'humidité ou de sécheresse très élevés (Richardson, 2002). Après leur mort, ils créent une couche de terreau qui permettra alors l'installation des bryophytes ou des phanérogames (Aubert *et al.*, 2007).

D'après Van Haluwyn *et al.* (2009), les lichens sont regroupés selon la nature du substrat.

➤ **Les lichens saxicoles**

Les lichens qui colonisent les rochers sont très nombreux et diversifiés. Les groupements saxicoles se rencontrent sur les substrats siliceux, les rochers, les murs et sur les toits. Ils sont fortement adhérents au substrat, auquel ils sont parfois incorporés en totalité ou en partie.

➤ **Les lichens terricoles**

Sont des lichens qui croissent sur la terre ou l'humus, le thalle est toujours entièrement situé à la surface du substrat. Les lichens terricoles sont fréquents dans les terres, les pelouses et les dunes.

➤ **Les lichens épiphytes**

Ce sont des lichens qui se trouvent sur les écorces de nombreux arbres et arbustes.

➤ **Lichens lichénicoles**

Ce sont des lichens qui se développent sur d'autres lichens.

➤ **Lichens muscicoles**

Des lichens qui poussent sur les mousses.

➤ **Lichens lignicoles**

Les lichens lignicoles sont des lichens qui poussent et se développent sur du bois mort ou sur du bois peu altéré, en milieu plus humide et Ombragé.

➤ **Lichens foliicoles**

Les lichens foliicoles sont des lichens qui se développent sur les feuilles des arbres. Dans tous les cas, les lichens ne sont pas des parasites, ils utilisent les végétaux comme support.

3.8. Utilisation des lichens

Les lichens trouvent des applications dans différents domaines. Ils ont été utilisés à travers le monde pour de nombreux usages.

3.8.1. Usages Médicinaux

Les lichens ont été utilisés dans les médecines traditionnelles comme des remèdes pendant plusieurs siècles (Karagöz *et al.*, 2009). Les Indiens et les médecins chinois utilisent différents lichens dans leurs médicaments (Richardson, 1988). Les espèces *d'Usnea* étaient les plus

utilisées. *Cetraria islandica* (mousse islandaise) est efficace pour traiter les maladies pulmonaires et le catarrhe (Shukla *et al.*, 2010). *Peltigera canina* est consommé en Inde comme remède contre les affections du foie en raison de sa teneur élevée en acide aminé méthionine qui pourrait être la base de son pouvoir curatif présumé (Hale, 1983). Aujourd'hui, il est reconnu qu'un grand nombre de métabolites secondaires ont une valeur médicinale (Pearce, 1997). L'effet antibiotique d'un certain nombre de métabolites du lichen s'est révélé significatif pour les bactéries à Gram positif, mais inefficace contre les bactéries à Gram négatif (Shukla *et al.*, 2010).

3.8.2. Usages alimentaires

Les lichens peuvent être utilisés dans l'alimentation des animaux. Dans les pays nordiques le lichen *Cetraria islandica* a été utilisé pour nourrir les porcs, les chevaux et les vaches (Ozenda, 2000). Les lichens sont utilisés d'une manière assez régulière sous forme de farine qui possède une valeur énergétique satisfaisante en pâtisserie ou pour la fabrication de pain pour diabétiques (Souchon, 1971). Au Japon diverses espèces d'*Umbilicaria* sont consommées soit crues en salade, soit cuites dans la graisse (Hans, 1989).

3.8.3. Utilisation en Teinturerie

Les lichens ont été utilisés comme source de colorant à l'époque des Grecs et probablement plus tôt (Henderson, 1999). *Roccella montagnei*, un lichen fruticuleux, a fourni de précieux colorants rouges ou violets dans la région méditerranéenne (Richardson, 1988). *Parmeliaomphalodes* est utilisée pour fournir un colorant brun riche pour la teinture des fibres de protéines, en particulier de la laine (Hale, 1974).

3.8.4. Utilisation en Parfumerie

L'une des utilisations économiques des lichens est l'industrie du parfum. Les deux espèces les plus importantes, *Evernia prunastri* et *Pseudevernia furfuracea* (Joulain and Tabacchi, 2009). Le lichen et l'écorce d'arbre combinés sont ensuite extraits avec un solvant organique, est utilisé dans certains parfums pour assurer la persistance sur la peau (Hiserodt *et al.*, 2000).

3.9. Sensibilité des lichens face à la pollution atmosphérique

Les lichens possèdent des caractéristiques biologiques qui les rend sensible aux polluants atmosphériques, permettant leur utilisation en biosurveillance de la qualité de l'air (Van Haluwyn and Lerond, 1993; Conti and Cecchetti, 2001). Par la structure de leur thalle, les

lichens sont plus sensibles que les végétaux à la pollution atmosphérique, même si celle-ci est faible. Les différents polluants peuvent aisément pénétrer dans les thalles, qui ne disposent d'aucun système de régulation des entrées et des sorties (Conti and Cecchetti, 2001; Cuny *et al.*, 2008).

De plus leur longévité et leur activité biologique quasi-annuelle (en particulier pendant les périodes humides propices aux dépôts atmosphériques) les transforment en organismes capables d'accumuler trois fois plus de contaminants atmosphériques qu'une feuille d'arbre (Loppi *et al.*, 1997) et deux fois plus que la partie végétative de plantes herbacées (Bargagli, 1993). Par conséquent, ils sont davantage soumis aux effets néfastes de ces polluants. Enfin, ces organismes ont la spécificité de synthétiser des acides lichéniques capables de complexer les éléments inorganiques (Hawksworth and Rose 1976), ce qui favorise la capture des éléments présents dans l'atmosphère. Plusieurs méthodes d'évaluation de pollution par ces peuplements ont été mises au point afin de définir des classes de pollution, en tenant compte soit des niveaux de présence/absence d'espèces indicatrices (Hawksworth and Rose 1970), soit d'une évaluation des associations lichéniques (Van Haluwyn and Lerond, 1986)

3.10. Les lichens bio-accumulateurs des polluants métalliques

Les lichens sont de bons outils pour évaluer les pollutions métalliques (Szczeplaniak and Biziuk, 2003). Ils sont d'excellents bioaccumulateurs d'éléments puisque les concentrations trouvées dans leurs thalles peuvent être directement corrélées avec celles de leur environnement (Sloof, 1995). Cependant cette propriété de bioaccumulation n'est pas identique chez toutes les espèces (Garty, 2001). Plusieurs paramètres physiologiques des lichens peuvent être affectés par l'accumulation de polluants atmosphériques métalliques ou gazeux. Les principaux changements sont la dégradation des chlorophylles et de leurs concentrations (Garty *et al.*, 1993), la baisse du taux de respiration et de photosynthèses (Hiiffner *et al.*, 2001), la diminution de l'intégrité des membranes cellulaires (Garty *et al.*, 1998); Néanmoins certaines espèces tolèrent des quantités supérieures aux concentrations toxiques pour d'autres espèces (Garty *et al.*, 2003).

De nombreuses études confirment l'utilisation des différentes espèces lichéniques comme bioaccumulateurs des ETM en biosurveillance passive et active (tableau 2).

Tableau 2 : Espèces lichéniques utilisées dans les études récentes de biosurveillance des ETM.

<i>Approche passive</i>				
Espèce lichénique	Lieu	Problématique	Eléments	Références
<i>Flavoparmelia caperata</i>	Italie	Evolution temporelle de la pollution urbaine	Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn	(Loppi <i>et al.</i> , 2004)
<i>Xanthoria parietina</i>	Italie	Pollution de fond dans la région de Venise (200 sites)	Al, As, Ba, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, V, Zn	(Nimis <i>et al.</i> , 2000)
<i>Parmelia sulcata</i>	Ghana	Dépôts des ETM au centre et en périphérie d'une ville industrielle	Al, Cr, Fe, Mn, Se, Th, Ti, V	(Nyarko <i>et al.</i> , 2006)
<i>Xanthoria parietina</i>	Italie	Imprégnation de l'environnement dans les provinces de Livourne (1999) et Pise (2002) (influences industrielle et routière)	As, Cd, Cr, Hg, Ni, Pb, V, Zn	(Scerbo <i>et al.</i> , 1999)
<i>Parmotrema reticulatum</i>	Chine	Evolution de la pollution de fond sur 30 ans	Ag, As, Au, Ba, Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, La, Mo, Ni, Rb, Sb, Sc, Se, Sr, Tb, Th, U, W, Yb, Zn	(Zhang <i>et al.</i> , 2002)
<i>Xanthoria parietina</i>	Algérie	Cartographie de la pollution plombique dans la région d'Alger	Pb	(Rahali, 2003)
<i>Xanthoria parietina</i>	Maroc	Utilisation des lichens comme bio-indicateurs de la pollution atmosphérique par le plomb, cadmium et zinc de la région de Rabat-Sale-Zemmour-Zaër.	Pb	(OUALI <i>et al.</i> , 2014)
<i>Xanthoria parietina</i>	Algérie	Bioaccumulation de trois métaux lourds par le lichen, <i>Xanthoria parietina</i> , dans la région Algéroise	Pb, Zn et Cd	(Sarmoum <i>et al.</i> , 2014)
<i>Xanthoria parietina</i>	Algérie	Quantification de l'émission de plomb Dans le milieu urbain de sidi bel' Abbes	Pb	(Belhadj <i>et al.</i> , 2015)

Suite Tableau 2.

<i>Approche active</i>				
<i>Ramalina celandri</i>	Argentine	Exposition dans différents milieux : industriel, urbain, rural	Fe, Mn, Zn	(Bermudez <i>et al.</i> , 2009)
<i>Ramalina celandri Usnea amblyoclada</i>	Argentine	Pollution en centre-ville, zone industrielle et zone résidentielle	Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn	(Carreras <i>et al.</i> , 2009)
<i>Parmelia sulcata</i>	Portugal	Exposition cinétique autour d'une usine fonctionnant au fuel	As, Ce, La, Se, V, Hg, Zn	(Costa <i>et al.</i> , 2002)
<i>Evernia prunastri Flavoparmeli a caperata</i>	Portugal	Transplantation dans un complexe industriel (raffinerie, pétrochimie, énergie)	Al, As, Br, Co., Cr, Fe, La, Mn, Rb, Sb, Se, Sm, Ti, V, Zn	(Godinho <i>et al.</i> , 2009)
<i>Parmelia sulcata</i>	Portugal	Transplants à proximité d'usines : test d'un modèle mathématique	Al, Pb	(Reis <i>et al.</i> , 1999)
<i>Pseudevernia furfuracea</i>	Italie	Exposition cinétique sur des sites urbains, industriels et ruraux	Al, As, Cd, Cu, Cr, Fe, Mn, Pb, V, Zn	(Sorbo <i>et al.</i> , 2008)
<i>Xanthoria parietina</i>		Cartographie de la pollution atmosphérique par le plomb d'origine routière à l'aide de la transplantation d'un lichen bioaccumulateur dans la ville de Tiaret (Algérie)	Pb	(Maatoug <i>et al.</i> , 2010)
<i>Ramalina farinacie</i>	Algérie	Utilisation des végétaux inférieurs comme bio indicateurs de la pollution plombique d'origine automobile dans la région de Annaba (Algérie)	Pb	(Maizi <i>et al.</i> , (2010)

3.10.1. Mécanismes d'accumulation des métaux

L'accumulation des métaux dans les lichens se fait par le biais des dépôts sec et humides. Cette assimilation des métaux lourds dans les lichens est une succession d'accumulation et d'excrétion. Le temps de résidence d'un métal dans le lichens est estimé entre 2 et 5 ans (Walther *et al.*, 1990). Les métaux dans les particules déposées à la surface du lichen vont être dans un premier temps absorbés et ensuite complexés à l'intérieur du lichen (Sarret *et al.*, 1998). L'assimilation des métaux dans les lichens avait pour origine des processus intra et extracellulaire (Garty, 2001) (Figure 6) :

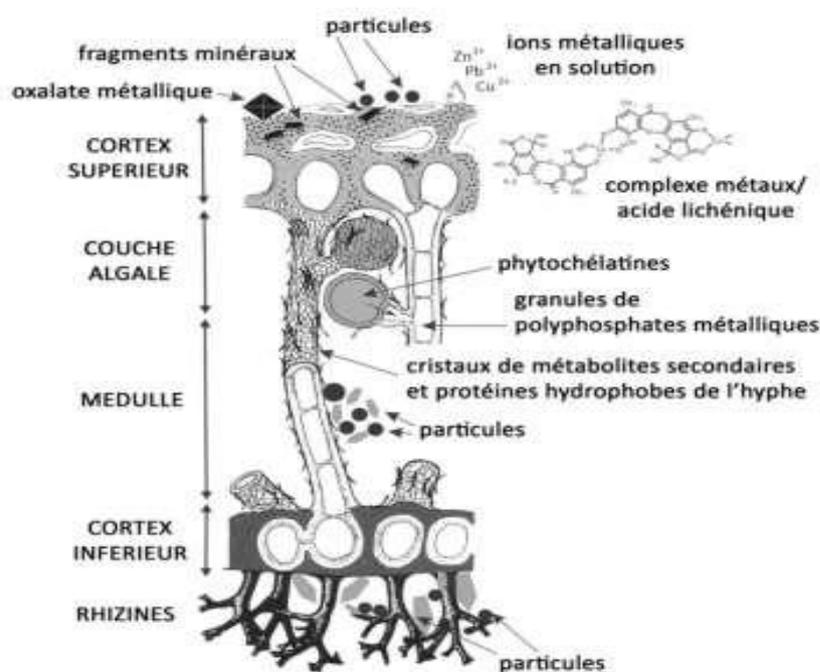


Figure 6 : Mécanismes d'absorption des métaux dans les lichens

- *l'adsorption extracellulaire* représente le principal mécanisme d'accumulation. C'est un processus rapide et réversible (Wainwright and Beckett, 1975). Le thalle agit comme une résine échangeuse d'ion captant les ions métalliques (Richardson and Nieboe 1981). Ces échanges se réalisent au niveau de sites protonés soit des acides carboxyliques, soit des acides hydrocarboxyliques disponibles sur les parois cellulaires du lichen.

- *l'adsorption intracellulaire* est un phénomène passif et lent, faisant intervenir le métabolisme des lichens. Ce phénomène est cependant dépendant de l'espèce lichénique, et la quantité de métaux est liée à la capacité totale d'échange d'ions de la paroi de la cellule. (Branquinho *et al.*, 1997).

De nombreux auteurs ont ainsi cherché à démontrer l'influence des différents paramètres permettant de mieux interpréter les concentrations ainsi obtenues. Ces facteurs d'influences sont la nature du substrat et l'espèce considérée (l'âge, la morphologie) (Sloof and Wolterbeek, 1993; Szczepaniak and Biziuk, 2003), les conditions environnementales (la température, le pH) et les variations saisonnières (Garty *et al.*, 1996), les sources de pollution et les variations géographiques (Doucet and Carignan, 2001; Veschambre, 2006).

3.10.2. Variations des éléments trace métalliques (ETM) dans les lichens

La variabilité des concentrations en métaux dans les lichens est influencée par *La proximité de sources* de contaminations. Les concentrations en ETM proche de source de contamination

présentent de fortes valeurs comparées aux valeurs loins de ces sources (Horvat *et al.*, 2000; Rizzio and Bergamaschi, 2001; Bargagli and Mikhailova, 2002).

Les environnements urbains sont également à l'origine de plus fortes concentrations en ETM (Basile *et al.*, 2008; Veschambre *et al.*, 2008; Agnan *et al.*, 2013). Veschambre *et al.* (2008) ont comparé de lichens prélevés sur la ville de Pau (sud-ouest de la France) et dans la vallée d'Aspe. Les lichens collectés en ville présentaient des concentrations en Pb 5 à 6 fois plus élevées que sur les sites éloignés et environ 4 fois plus concentrées en Cu.

Agnan *et al.* (2013) ont collecté des lichens dans la ville d'Albi (sud-ouest de la France) et sur des sites ruraux. Les concentrations en Pb et Cu étaient respectivement 2 et 1.5 fois supérieures comparées aux sites ruraux.

Les concentrations en ETM dans les lichens peuvent être affectées par les variations saisonnières. Russell *et al.* (2010) ont observé de plus fortes concentrations en Pb dans des lichens de Californie au cours de la saison sèche (Septembre) qu'au cours de la saison humide (Mars). Des variations similaires ont été également reportées dans la littérature pour Cu, Zn, Pb, Cr and Cd (Loppi and Pirintsos, 2003; Kularatne and de Freitas, 2013)

A proximité d'une usine d'extraction de cuivre, Rusu *et al.* (2006) ont observé un enrichissement en Pb et Cu d'un facteur 4 et 8, confirmant la déposition de ces éléments due à la proximité de l'usine. Spiro *et al.* (2004) ont également constaté un enrichissement en Pb à proximité d'une fonderie de Cu, les concentrations obtenues dans les lichens atteignant 1200 mg/kg à proximité de la fonderie.

Au Canada Simonetti *et al.* (2003), Les lichens ont été prélevés de l'île de Vancouver, jusqu'au territoires du nord-ouest, et dans la province d'Alberta. Les influences industrielles nord-américaines et la proximité des centres urbains influencent significativement les concentrations des éléments Zn, Cu, Pb, Cd des lichens.

Au Portugal, des lichens ont été prélevés sur tout le territoire et ont montré que les émissions des industries du charbon, du pétrole et chimiques sont responsables des fortes concentrations en V, Ni, S, Se et Hg mesurées dans les lichens (Freitas *et al.*, 1999).

En Italie, des lichens ont été prélevés sur des sites où se sont implantées de nombreuses industries textiles (Rizzio and Bergamaschi, 2001), génératrices de Cd, Cr, Ni, Sb et Pb, responsables de fortes concentrations mesurées dans les lichens. Une autre étude en Italie a été réalisée dans une région où l'exploitation minière est importante et où les sources géothermales sont responsables respectivement des concentrations de S, As, Zn, Cu et de B, S, As, mesurées dans les lichens (Bargagli *et al.*, 2002).

En France, dans les Vosges et les Alpes, des lichens ont été prélevés selon un gradient altitudinal. La variabilité des concentrations croissantes et des rapports isotopiques du plomb expliquent l'impact des émissions industrielles sur les sommets des chaînes de montagne (Doucet and Carignan, 2001). La variation spatiale des concentrations des ETM autour d'une source fixe montre que, suivant la direction des vents, les émissions anthropiques se déposent préférentiellement dans une direction (Cloquet *et al.*, 2006; Rusu *et al.*, 2006).

3.11. Objectifs de biosurveillance des ETM par les lichens

3.11.1. Identification des sources de pollution et suivi de l'environnement

Afin d'optimiser le choix des sites de mesures, les bioaccumulateurs sont également employés dans les études préliminaires à l'implantation de nouveaux capteurs. Les dosages des ETM dans les lichens en Vénétie ont permis à (Nimis *et al.*, 2000) d'identifier les zones de fortes altérations, et de localiser les maxima locaux en 13 éléments, pour équiper en priorité ces sites d'instruments de mesures physicochimiques.

De façon analogue, Zhang *et al.* (2002) ont dosé une trentaine d'ETM dans des herbiers de lichens récoltés dans le sud-ouest de la Chine dans les années 1960, 1980 et 1990, dans le but d'évaluer la pollution de fond sur trente ans. Pour de nombreux éléments, notamment le chrome, l'arsenic, le fer, le nickel, l'uranium et le zinc, ils observent une diminution des concentrations dans les échantillons au cours du temps durant les dernières décennies.

A plus court terme, Loppi *et al.* (2004) ont observé une diminution des ETM, notamment du plomb, dans les lichens récoltés dans la ville italienne de Montecatini Terme de 1993 à 1999, soit avant et après la mise en service de l'essence sans plomb. La bioaccumulation des ETM peut donc être un excellent outil de suivi de la situation à un endroit donné

Les investigations sur les métaux lourds ont été déclinées à différentes échelles, sur des écosystèmes comme les forêts (Loppi and Pirintsos, 2003), à proximité de sources ponctuelles (Cuny *et al.*, 2001) dans différentes villes ou provinces (Scerbo *et al.*, 1999; Nimis *et al.*, 2000; Aslan *et al.*, 2004; Cuny *et al.*, 2004; Loppi *et al.*, 2004) au cours d'études ponctuelles ou à long terme (Brunialti and Frati, 2007)

La grande majorité des travaux menés a pour but de mettre en évidence les différentes contaminations de l'environnement et fréquemment les principales sources de métaux. Ainsi, grâce à l'étude des lichens dans les provinces de Livourne et Pise en Italie, des concentrations importantes de mercure, cadmium plomb et vanadium dues aux émissions d'installations

sidérurgiques, d'industries chimiques, d'installations de production d'énergie et d'un trafic routier dense ont été mises en évidence (Scerbo *et al.*, 1999; Scerbo *et al.*, 2002).

3.11.2. Etude des risques sanitaires

La première utilisation de la biosurveillance lichénique comme indicateur environnemental en liaison avec des études épidémiologiques date de 1997. Cislighi and Nimis (1997) ont comparé la cartographie de la mortalité par cancers pulmonaires chez les hommes de moins de 55 ans avec celle des indices de biodiversité lichénique en Vénétie, au Nord de l'Italie.

Au Portugal, Sarmiento *et al.* (2008) ont étudié les corrélations entre les concentrations de 39 éléments traces dans 228 échantillons du lichen *Parmelia sulcata* et la mortalité par le cancer. Des relations positives et significatives entre la mortalité par cancer et les concentrations de 7 éléments : Br, I, Ni, Pb, S, Sb & V ont été établis.

Des études de biosurveillance active ont été menées à Cordoba, en Argentine par Carreras *et al.* (2009) à l'aide de transplants de lichens. Les concentrations en fer, manganèse, cobalt, nickel, cuivre, et plomb dosées dans les lichens apparaissent significativement corrélées avec l'incidence des maladies respiratoires (pharyngite, asthme, rhinite allergique, laryngite) chez les enfants de moins de 6 ans.

4. Les huiles essentielles

Les Huiles Essentielles (HE) sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux. Obtenus soit à partir des matières premières naturelles par distillation à l'eau, soit à partir des fruits de citrus par des procédés mécaniques et qui sont séparées de la phase aqueuse par des procédés physiques (AFNOR, 2000). Les huiles volatiles ou essences aromatiques végétales sont des substances odorantes, volatiles, huileuses, de nature hydrophobe totalement solubles dans les alcools, l'éther (Guestem *et al.*, 2001).

4.1. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des huiles essentielles, chacune ayant plusieurs variantes que l'on utilise en fonction du matériel végétal à traiter. Les principales méthodes d'extraction sont basées sur l'hydro distillation, expression à froid (Burt, 2004). De nouvelles techniques permettant d'augmenter le rendement de production, ont été développées, comme l'extraction au moyen de dioxyde de carbone liquide à basse température et sous haute pression (Santoyo *et al.*, 2005) ou l'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes (Kimbaris *et al.*, 2006).

4.2. Composition chimique

Un mélange complexe de constituants hétérogènes, ces constituants appartiennent quasi exclusivement, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distincts: le groupe des terpènes et des terpénoïdes (isopréniques, monoterpènes, les sesquiterpènes, les diterpènes et les triterpènes) (Rhayour, 2002; Clarke, 2008) d'une part, et le groupe des composés aromatiques dérivés du phenylpropane d'autre part. Elles peuvent également contenir des constituants non volatils issus de processus de dégradation (Bakkali *et al.*, 2008) en plus des hydrocarbures (terpènes et sesquiterpènes) et des composés oxygénés (les alcools, les esters, les éthers, les aldéhydes, les cétones, les phénols et les éthers de phénol). (Bruneton, 2009).

4.3. Méthodes d'analyse des huiles essentielles

Les méthodes de détermination à utiliser sont décrites dans le recueil de normes françaises "huiles essentielles" édité par l'Association Française de Normalisation (AFNOR) et dans le recueil de normes de l'International Standard Organisation (ISO). Et celles qui ont pour objet l'identification qualitative et quantitative, des différents constituants d'une huile essentielle

(CPG, CG/SM, CG/FTIR, HPLC, RMN, IR, etc.). L'étude de la composition chimique est généralement effectuée par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) (Salzer, 1977).

4.3.1. La chromatographie en phase gazeuse

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est la technique la mieux adaptée à l'analyse des huiles essentielles. C'est une méthode basée sur le principe de la chromatographie de partage (Tranchant, 1964) qui permet la séparation de composés à l'état gazeux suivant leur coefficient de partage entre une phase stationnaire liquide imprégnée sur un support solide inerte (colonne de chromatographie) et parcouru par une phase mobile gazeuse (le gaz vecteur). La phase stationnaire étant un liquide non volatil réparti ou greffé sur un support inerte. La phase mobile est constituée de gaz inerte (H₂, N₂, He). La solution est injectée au moyen d'une seringue soit manuellement, soit avec un injecteur automatique qui permet d'obtenir une meilleure reproductibilité. La chambre d'injection est maintenue à une température telle que la vaporisation de l'échantillon se fasse dans un temps le plus court possible. La séparation des composés dépend du type de colonne utilisée et de la polarité de la phase stationnaire. Après avoir choisi le type de colonne appropriée et un programme de température adéquat, la détection des composés élués est obtenue par un détecteur FID (détecteur par ionisation à flamme).

4.4. Activité antimicrobienne des huiles essentielles

Les HEs sont connues pour posséder l'activité antimicrobienne et certaines sont classées comme des substances sûres et pourraient donc être employées pour empêcher la croissance des microorganismes pathogènes et contaminants (Gachkar *et al.*, 2007; Rasooli *et al.*, 2008)). Leur spectre d'action est très étendu, car elles agissent contre un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques.

Cette activité est par ailleurs variable d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre (Bruneton, 2009). Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs. Les huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif (Burt, 2004)

4.5. Les huiles essentielles des lichens

Il existe deux groupes de composés lichéniques, les métabolites primaires (intracellulaires) et les métabolites secondaires (extracellulaires). Certains de ces produits sont synthétisés par le champignon et d'autres par l'algue. Le thalle du lichen étant une structure composite, il n'est pas toujours possible d'identifier à quel endroit un composé particulier est biosynthétisé. La plupart des produits intracellulaires isolés à partir de lichens ne sont pas spécifiques et se retrouvent également dans les champignons libres, les algues et les plantes vertes supérieures (Hale, 1983). La majorité des composés organiques présents dans les lichens sont des métabolites secondaires du composant fongique, qui se déposent à la surface des hyphes plutôt que dans les cellules (Stocker *et al.*, 2004).

La première classification des substances de lichen basée sur des structures connues et des voies de biosynthèse a été construite par (Asahina and Shibata .S., 1954). La classification des lichens est modifiée au fur et à mesure que de nouvelles informations sont disponibles (Culberson and Elix 1989). Les champignons formant des lichens synthétisent de nombreux métabolites secondaires par le biais de différentes voies de biosynthèse, notamment la voie Acétate polymalonate (par exemple les dépsidones, l'acide usnique Monoaromatique phénoliques, les xanthonnes...), la voie de l'acide shikimique (par exemple les cyclopeptides, les dérivés de l'acide pulvinique) et la voie acide mevalonique (par exemple diterpènes, triterpènes, stéroïdes) (Culberson *et al.*, 1989).

4.6. Rôle des métabolites secondaires

Plusieurs hypothèses ont été émises concernant le rôle des metabolites secondaires. Ils ne semblent pas essentiels à la croissance végétale, mais peuvent jouer un rôle important dans les mécanismes de défense contre les agressions extérieures (Fahselt, 1994; Shukla *et al.*, 2010). Certains métabolites tels que les anthraquinones, pourraient agir comme pigments accessoires, permettant en condition de faible luminosité de capter l'énergie solaire ou à l'opposé, de protéger l'organisme contre les effets nocifs induits par les radiations solaires (Fahselt, 1994). Outre leur rôle comme agents protecteurs contre les stress physiques, les métabolites secondaires interviennent dans les mécanismes de défense dirigés contre divers organismes. Par exemple, les terpènes et les dibenzofuranes possèdent des propriétés antibactériennes et antifongiques (Dahl, 2003). Les métabolites secondaires lichéniques peuvent intervenir dans la tolérance aux pollutions liées aux métaux lourds (Purvis *et al.*, 2007).

4.7. Les composants odorants dans les HE des lichens

L'utilisation des lichens comme matière odorante naturelle remonte aux civilisations anciennes. Les Egyptiens, par exemple, se servaient de la mousse de chêne (*Evernia prunastri*) pour parfumer les objets les plus divers, pour la fabrication du pain et l'embaumement des corps (Nicollier *et al.*, 1979) . Au Moyen Age, cette mousse était employée pour la préparation de poudres odorantes et dans le traitement des voies respiratoires. Son efficacité comme médicament peut s'expliquer par sa teneur en composés phénoliques (Seu-Salerno and Blakeway, 1987).

De nos jours, les lichens sont très recherchés dans la parfumerie pour la fabrication d'essences concrètes. Ils possèdent une odeur fraîche sont couramment employés dans la composition de parfums genre fougère, Chypre et de fantaisie, lesquels sont utilisés dans des produits cosmétiques comme eau de cologne, lotion, savon de toilette, détergent ou encore comme fixatif (Bassiri, 1960; Astous, 1989)

4.8. Composition chimique des lichens

Les études sur la composition chimique des lichens se limitent à la mise en évidence des composés polyphénoliques lourds (depsides, depsidones) (Culberson *et al.*, 1989). plusieurs auteurs Stoll and Scherre (1937); Gavin *et al.* (1978); Seu-Salerno and Blakeway (1987) ont identifié dans les lichens des substances plus ou moins volatiles, des monoterpènes, monoterpènes oxygénés, sesquiterpènes, aldéhydes, cétones, hydrocarbures aromatiques et aliphatiques, présents en faible quantité, mais qui contribuent d'une manière importante à la reproduction de l'odeur spécifique des essences concrètes .

Kahriman *et al.* (2012) ont fait des études sur la composition chimique de quatre types de lichens et ont trouvé une variation dans la composition chimique des espèces (Tableau3)

Tableau 3 : Composition chimique de quatre types de lichens.

COMPOSANTS (%)	<i>Cladonia rangiformis</i>	<i>Cladonia furcata</i>	<i>Evernia prunastri</i>	<i>Evernia divaricata</i>
Hydrocarbures monoterpéniques				
Tricyclen	-	-	0.5	2.2
α -Pinene	0.9	0.2	6.6	7.2
Limonene	5.4	-	1.6	6.3
Camphene	-	-	3	3.1
β -Pinene	-	-	6.3	8.0
α -phellandrene	-	-	3.3	4.1
γ -Terpinene	-	-	0.5	1.9
Terpinolene	-	-	-	3.1
ρ -Cymene	-	-	1.5	1.8
Hydrocarbures sesquiterpéniques				
Longifolene	0.5	-	-	-
(E)-Caryophyllene	0.5	-	-	-
Selina-3,7(11)-diene	1.0	-	-	-
α -Copaene	-	-	1.0	2.5
(Z)-Caryophyllene	-	-	-	0.6
(E)-Caryophyllene	-	-	-	2.6
Sesquiterpène oxygéné				
Caryophylleneoxide	2.4	-	2.6	-
AcorenoneB	1.2	-	-	-
Monoterpène oxygéné				
α -Campholenal	-	-	-	1.8
<i>trans</i> -Pinocarveol	-	-	2.7	2.0
Carvone	-	-	-	2.2
α -Terpinen-7-ol	-	-	2.6	2.9
Diterpène oxygéné				
Epi-13- Manoole oxide	-	-	2.4	-
Diterpène				
(E)-Citronellytigate	1.7	10.7	-	-
Abietatriene	-	-	1.3	0.6
Des hydrocarbures				
Tetradecane	0.5	-	-	-
1-Pentadecene	1.1	-	-	-
Pentadecane	-	0.3	-	-

Suite tableau 3.

Hexadecane	-	1.0	-	-
8-Heptadecene	1.7	18.3	-	-
1-Heptadecene	2.7	-	-	-
1-Octadecene	1.0	-	-	-
Docosane	-	6.4	-	1.3
Tricosane	-	14.6	4.3	-
Tetracosane	5.1	-	-	1.6
Pentacosane	1.0	17.0	0.5	2.1
Heptadecene	-	-	1.2	2.9
Nonadecane	-	-	-	1.5
Eicosene	-	-	0.7	-
1-Docosane	-	-	3.4	1.3
1-Tricosane	-	-	10.1	2.5
Alcools				
1-Octen-3-ol	15.7	1.6	-	-
3-Octanol	11.7	-	-	-
1-Nonanol	2.0	-	-	-
Aldéhydes				
Benzeneacetaldehyde	2.0	0.4	-	-
Nonanal	1.9	-	-	-
Decanal	1.9	-	-	-
Tetradecanal	1.0	-	-	-
Les esters				
Veramoss	3.8	2.5	-	-
Cyclohexadecanolide	0.8	-	-	-
Cétone				
3-Octanone	21.7	18.6	-	-
Undecanone-2	-	-	-	1.7
Autres				
2-Pentyl furan	-	-	1.7	-
2E,4E-Decadienal	-	-	0.3	0.6
Veramoss	-	-	11.5	-
Disobutyl phthalate	-	-	6.5	-

Chapitre II :

MATERIEL ET METHODES

1. Zone d'étude

1.1. Situation géographique

La ville de Sétif fait partie de l'ensemble des Hautes plaines du Nord – Est algérien. Elle est localisée au Sud-est de la capitale du pays à 1100 m d'altitude. La wilaya de Sétif est limitée au nord par les wilayas de Bejaïa et Jijel, à l'Est par la wilaya de Mila, au sud par les wilayas de Batna et Msila et à l'Ouest par la wilaya de BBA (Figure 7).

La zone d'étude s'étend sur une superficie de 6 549 km². Elle est composée de trois grandes zones, l'une montagneuse, celle des Hautes plaines et l'autre représentée par une lisière. Grâce au réseau de communication, tissé par les routes nationales et l'autoroute Est-Ouest, Sétif est devenue un passage obligatoire des flux venant de Sud vers les ports de Jijel et Bejaïa et les mouvements entre l'Est et l'Ouest. Composée de 60 communes et 20 daïras, la wilaya de Sétif est classée en deuxième position après la capitale en terme de potentiel démographique.

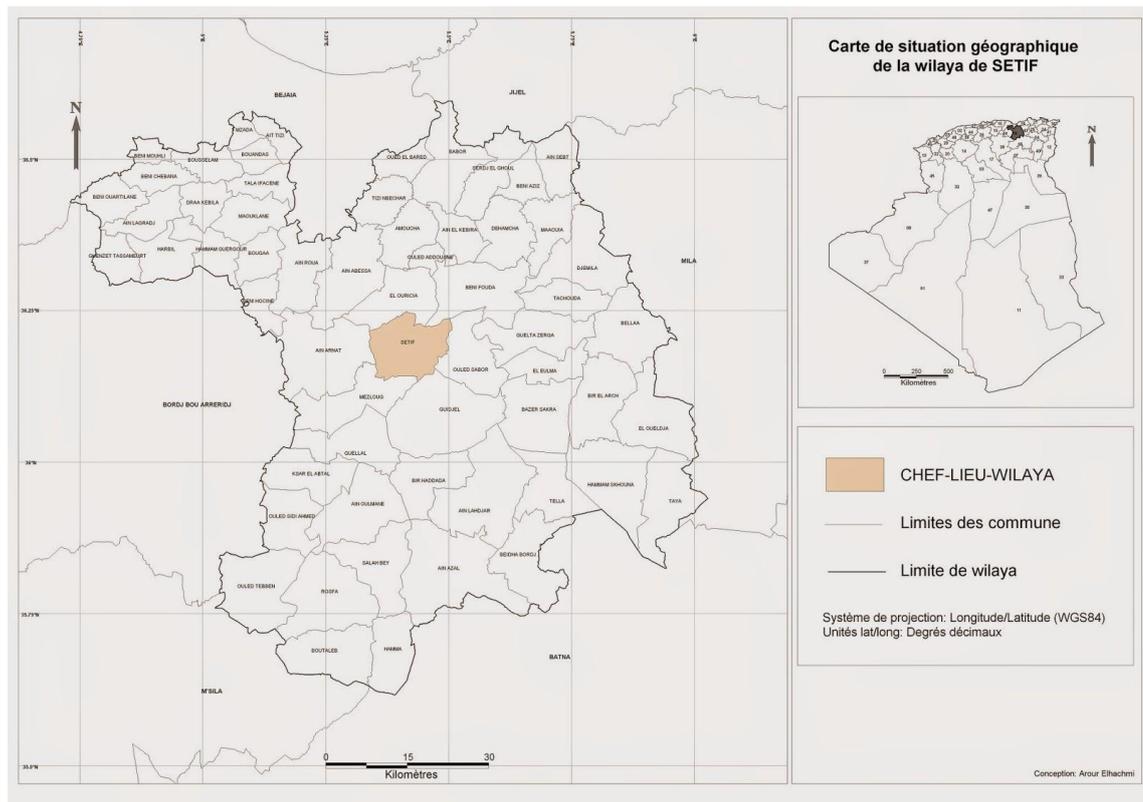


Figure 7 : Situation géographique de la zone d'étude

1.2. Le climat

La région de Sétif se situe à peine de quelques dizaines de kilomètres (vol d'oiseau) de la méditerranée, elle se caractérise en grande partie par un climat continental semi-aride, avec des hivers froids et pluvieux et des étés chauds et secs. L'orientation du relief a particulièrement de lourdes conséquences dans le domaine climatique, elle provoque le blocage des influences maritimes venant du nord (Rouabhi, 2014).

Les pluies sont insuffisantes et irrégulières dans le temps et dans l'espace ; Si les monts des *Babors* sont les plus arrosés en recevant plus de 700mm par an, la quantité diminue sensiblement pour atteindre 400 mm en moyenne sur les hautes plaines, tandis que, les zones Sud et Sud-Est restent les moins arrosées, où les précipitations annuelles ne dépassent pas les 300mm. La saison sèche s'étend généralement entre les mois de mai et septembre.

1.3. La végétation

Le couvert végétal de la région de Sétif est caractéristique des régions du climat semi-aride. Il regroupe l'ensemble des espèces végétales qui s'y développent spontanément ainsi que certaines espèces acclimatées qui s'y sont bien adaptées. Les précipitations et l'altitude conditionnent en grande partie l'importance et la variabilité de la végétation. On distingue sur les monts à forte pluviosité et sur les plaines des essences forestières variées telles que : le pin d'Alep, le Cyprès, le cèdre, le Sapin de Numidie, le Chêne vert et le Chêne-liège. Par ailleurs, la zone montagneuse est aussi une région où prolifèrent l'arboriculture pluviale notamment l'olivier et le Figuier. Une bonne partie de la superficie de la région se caractérise par une végétation pauvre voire inexistante, notamment dans la zone des dépressions ou Sebkhats, où le problème de salinité est le plus fréquent (Rouabhi, 2014).

1.4. Le réseau routier

La wilaya est desservie par un important réseau routier à caractère national, constitué de la RN5 (reliant Sétif à Alger et à Constantine), la RN9 (reliant Sétif à Bejaïa), la RN28 (reliant Sétif à Biskra), la RN75 (reliant Sétif à Batna). Le réseau routier de la wilaya a une longueur de près de 3500 km répartir en :

- Routes nationales : 634 km
- Chemins de wilaya : 673 km
- Chemins communaux : 2162 km
- L'autoroute Est-Ouest traverse la wilaya sur 75 km ;

En outre la Wilaya est traversée par une ligne de chemin de fer de 83 Km

2. Bio indication par les lichens

Soixante stations ont été échantillonnées dans la région de Sétif durant une période de trois mois (septembre – novembre 2014). Aux niveaux de ces stations, les lichens ont été collectés sur des troncs d'arbres les plus riches en espèces lichéniques. Les coordonnées géographiques (GPS) des 60 stations échantillonnées sont notées (Tableau 4)

Tableau 4: Localisation des stations échantillonnées de la région de setif

	<i>Stations</i>	<i>Altitude(m)</i>	<i>Latitude Nord</i>	<i>Longitude Est</i>
1	Beni ourthilane	1 238	36° 25' 60"	4° 54' 0"
2	Beni mouhli	767	36° 30' 27"	4° 54' 54"
3	Beni chebana	938	36° 27' 54"	4° 52' 34
4	Bousselam	870	36° 29' 39"	5° 2' 37"
5	Ait nauoual mezada	1 163	36° 32' 32"	5° 5' 24"
6	Bounadas	1 022	36° 29' 41"	5° 6' 7"
7	Ait tizi	919	36° 33' 32"	5° 7' 38"
8	Ain lagredg	1 135	36° 24' 35"	4° 53' 28"
9	Draa kebila	712	36° 26' 11"	4° 59' 44"
10	tala ifacene	590	36° 22' 52"	4° 59' 27"
11	Guenzet	1 083	36° 19' 0"	4° 49' 60"
12	Harbil	1 113	36° 19' 30"	4° 55' 35"
13	Maouklane	977	36° 23' 50"	5° 4' 31"
14	Oued Elbared	691	36° 28' 36"	5° 24' 5"
15	Hammam guerguor	831	36° 19' 0"	5° 4' 0"
16	Bougaa	950	36° 19' 57"	5° 5' 19"
17	tizi n'bachar	881	36° 25' 52"	5° 21' 36"
18	Babour	954	36° 29' 25"	5° 32' 24"
19	Beni oussine	981	36° 16' 20"	5° 7' 39"
20	Ain roua	1 085	36° 20' 4"	5° 10' 50"
21	Ain abbassa	1 125	36° 17' 60"	5° 17' 42"
22	Amoucha	775	36° 23' 17"	5° 24' 39"

Suite tableau 4.

23	Ouled adouane	1 035	36° 20' 24"	5° 28' 28"
24	Ain lekbira	1 024	36° 21' 53"	5° 30' 7"
25	Serdje algoule	1 006	36° 28' 41"	5° 34' 38"
26	Beni aziz	752	36° 28' 0"	5° 39' 0"
27	Ain assabt	700	36° 28' 54"	5° 42' 40"
28	Dhamcha	933	36° 22' 56"	5° 35' 43"
29	Maouia	768	36° 23' 20"	5° 42' 36"
30	Ain arnet	1 020	36° 10' 60"	5° 19' 0"
31	Ourissia	1 103	36° 17' 1"	5° 24' 34"
32	Beni fouda	900	36° 17' 10"	5° 36' 26"
33	Djemila	1 462	36° 19' 2"	5° 44' 7"
34	Mezloug	933	36° 6' 28"	5° 20' 13"
35	Setif	1 100	36° 9' 0"	5° 25' 60"
36	Ouled saber	1 070	36° 9' 46"	5° 33' 43"
37	Guelta zarga	1 022	36° 12' 32"	5° 41' 16"
38	Tachouda	1 072	36° 15' 45"	5° 42' 47"
39	Kasr el-abtal	897	35° 58' 27"	5° 17' 17"
40	Guellet	911	36° 2' 42"	5° 19' 41"
41	Guedjel	985	36° 7' 7"	5° 31' 48"
42	El-eulma	950	36° 9' 23"	5° 41' 6"
43	Bellaa	998	36° 12' 9"	5° 51' 13"
44	Ouled si ahmed	1 259	35° 54' 4"	5° 11' 30"
45	Ain oulmene	950	35° 54' 0"	5° 16' 60"
46	Bir haddada	934	35° 57' 46"	5° 25' 51"
47	Ain lahdjer	916	35° 56' 14"	5° 32' 32"
48	Bazer sakhra	918	36° 4' 13"	5° 43' 49"
49	Bir El-Arch	1 100	36° 7' 60"	5° 49' 60"
50	El ouldja	885	36° 3' 49"	5° 57' 13"
51	Ouled tabene	1 119	35° 48' 46"	5° 6' 5"

Suite tableau 4

52	El Rasfa	1 001	35° 48' 37"	5° 15' 55"
53	Saleh Bey	978	35° 51' 15"	5° 17' 30"
54	Ain Azel	916	35° 50' 36"	5° 31' 19"
55	H.soukhna	869	35° 58' 36"	5° 48' 32"
56	Boutaleb	860	35° 39' 37"	5° 19' 16"
57	El hamma	906	35° 40' 49"	5° 22' 22"
58	Bida Bordj	891	35° 53' 39"	5° 39' 49"
59	Tella	902	36° 0' 25"	5° 43' 4"
60	Taya	888	35° 58' 17"	5° 57' 23"

2.1. Matériel utilisé sur le terrain

Afin d'établir les relevés in-situ, nous avons utilisé le matériel suivant :

- Localisation à l'aide de GPS
- Grille de relevé, crayon.
- Loupe à main de grossissement.
- Appareil photo numérique
- Couteau pour les prélèvements des échantillons, petits boîte en plastique.

2.2. Méthode de l'échantillonnage

Pour évaluer la qualité globale de l'air, nous avons choisi la méthode allemande de Korschbaum et Wirth (1997). Cette méthode est relativement simple d'utilisation et présente un faible coût financier. Elle consiste en plusieurs étapes importantes, à commencer par le maillage de la zone d'étude, le choix des arbres porteurs de lichens, les relevés lichéniques et la cartographie des lichens.

2.3. Maillage

La première étape de la méthode consiste à définir un maillage sur la zone étudiée. Dans chaque maille, on observera le recouvrement lichénique sur 6 arbres choisis.

2.4. Choix des arbres

Les arbres choisis doivent être soumis aux mêmes conditions de luminosité, d'humidité et d'exposition au vent. Le développement des lichens diffèrent selon les essences d'arbres, et par conséquent les caractéristiques de l'écorce. Il faut également tenir compte des qualités

de l'écorce (son acidité naturelle, sa structure plus ou moins crevassée...). En pratique, parmi les arbres d'une station, on choisit celui qui est le plus riche en lichens, le plus représentatif et montrant des caractéristiques comparables. Il faut éviter les arbres inclinés ainsi que ceux qui ont subi des blessures.

2.5. Les relevés

La première étape de réalisation des relevés passe par la saisie de différents types des espèces et leur fréquence. Celui-ci est réalisé en suivant un protocole rigoureux : les lichens sont recensés à l'intérieur d'une surface de relevé bien définie sur la partie du tronc la plus colonisée. Les relevés sont effectués à l'intérieur d'une surface de 20 x 50 cm avec un transparent comportant 10 cases de 10 x 10 cm permettant de définir rapidement la fréquence de chaque espèce donc la fréquence d'une espèce sur un arbre varie entre 1 et 10 (figure 8). La grille de relevé est placée à une hauteur moyenne de 100 à 150 cm pour éviter les contaminations dues aux déjections animales ou aux divers fertilisants utilisés. Le nombre de mailles de la grille dans lesquelles une espèce donnée est présente, est consigné sur une feuille de relevé. La. Chaque relevé fait l'objet d'une fiche dans laquelle sont précisées les fréquences. Cette procédure est répétée pour toutes les espèces présentes à l'intérieur de la grille. Refaire la même opération sur chaque arbre de la station. Remplir la "fiche station" en calculant les fréquences de chaque espèce. La même série d'opération est à réaliser pour chaque station.}

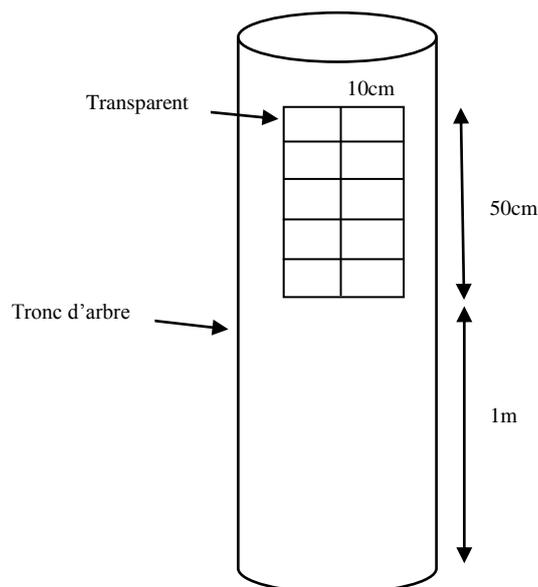


Figure 8 : Grille d'échantillonnage

2.6. Récolte des lichens

Les lichens qui présentent des difficultés de leur détermination in-situ, sont généralement récoltés aisément à l'aide d'un couteau ou simplement à la main, il vaut mieux prélever les thalles entiers ou, à défaut, un fragment représentatif avec la partie périphérique et la partie centrale. Les échantillons sont placés dans des sacs en papier et étiquetés avec le numéro de relevé et le nom du site.

2.7. Détermination des lichens

L'identification d'un lichen s'effectue dans un premier temps à l'aide d'une loupe de poche et loupe binoculaire. Ensuite nous déterminons l'espèce après consultation des différentes flores. Nous procédons à l'utilisation des réactifs chimiques quand il y a une ambiguïté entre deux genres ou deux espèces et qu'on ne parvient pas à une identification exacte.

Les principaux réactifs chimiques employés en lichénologie sont :

- Le chlore (cl) : Eau de javel de commerce concentrée
- La potasse (k) : Solution à 10 %
- La paraphénylène-diamine (p) : Solution alcoolique à 2 %.

Les réactions colorées s'effectuent en déposant le réactif directement sur le thalle et / ou sur la médulle préalablement mise à nu en rayant ou en grattant le cortex supérieur.

- S'il n'y a aucune réaction, on mentionne le signe «-» sur la fiche d'identification.
- Si la réaction est positive, on note le signe «+» (Ozenda and Clauzade, 1970).

Plusieurs flores ont été utilisées pour la détermination des lichens

- Guide des lichens, 350 espèces de lichens d'Europe de (Tievant, 2001).
- Guide des lichens de France, lichens des arbres de (Van Haluwyn *et al.*, 2009).
- Guide de lichens de France, lichens des sols de (Van Haluwyn *et al.*, 2012).
- Le site web de l'association française de lichénologie (Roux *et al.*, 2018).

2.8. Calcul des indices de bioindication

2.8.1. Calcul de l'indice de qualité de l'air (IQA)

Les indices IQA sont calculés de la manière suivante :

- Calcul de la fréquence moyenne de chaque espèce de lichens présente sur les six arbres étudiés.

• Ensuite, les fréquences moyennes de chaque espèce sont additionnées ; la somme résultante représente alors l'indice de la qualité de l'air (IQA). La valeur de l'IQA est représentée sous la forme de couleur (Figure 9) (Kirschbaum and Volkmar, 1997).

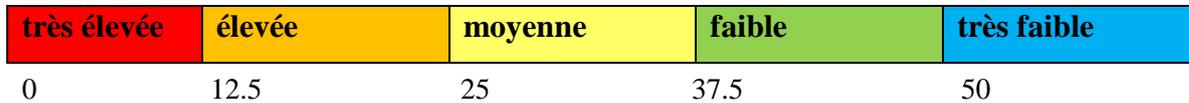


Figure 9 : Échelle d'évaluation des classes de qualité de l'air (IQA)

2.8.2. Calcul de l'indice de pureté de l'air (IPA)

Une approche floristique quantitative est élaborée au Québec permettant la détermination d'un indice de pollution à partir de la flore lichénique épiphyte en calculant l'indice de pureté atmosphérique (IPA) (LeBlanc *et al.*, 1970). Cet indice se calcule à partir de la fréquence des espèces rencontrées dans une station, selon la formule suivante :

$$IPA = \frac{1}{10} \sum_{i=1}^n (Q_i \times f_i)$$

Avec i : espèce lichénique

n , le nombre d'espèces dans la station

Q_i , l'indice écologique de l'espèce i

f_i , le coefficient de recouvrement de l'espèce i (de 1, rare, à 5, abondante)

Le coefficient Q d'une espèce est déterminé empiriquement en additionnant le nombre d'espèces accompagnantes présentes sur tous les sites étudiés, puis en divisant par le nombre total de sites. L'échelle des valeurs d'IPA peut alors avoir une correspondance au niveau de la qualité de l'air (Figure 10)

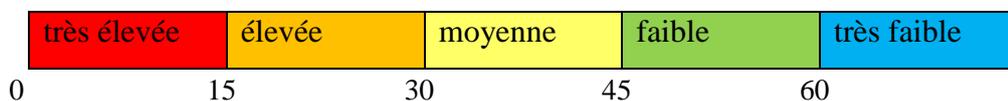


Figure 10 : Échelle d'évaluation des classes de qualité de l'air (IPA).

Pour le calcul de l'IPA, il est recommandé d'observer des stations dont les conditions écologiques sont aussi semblables que possible. Un autre avantage de cette méthode est la possibilité de l'appliquer à des relevés anciens et de pouvoir comparer la carte de la pollution

actuelle avec celle de la pollution antérieure en plus, cette méthode n'utilisant pas d'espèces particulières, et peut être utilisée dans tous les cas de Pollution atmosphérique.

2.8.3. Calcul de valeur de diversité lichénique (VDL)

Cette approche a été retenue au niveau européen pour réaliser la cartographie de la diversité lichénique (Asta *et al.*, 2002). Elle élabore une valeur de diversité lichénique (VDL) basée sur la somme des fréquences des espèces lichéniques. Utilisant les quatre faces de l'arbre, cette valeur correspond à l'IQA multipliée par deux, car deux fois plus de surface échantillonnée.

2.8.4. Calcul d'Indice de Shannon (H')

L'indice écologique de Shannon H' est un indice permettant de mesurer la diversité spécifique, se détermine à partir des proportions du nombre d'individus de l'espèce i (ni) en fonction du nombre total d'individus toute espèce confondue (N) selon la formule suivante :

$$H' = - \sum_{i=1}^{i=S} \frac{n_i}{N} \log_2 \left(\frac{n_i}{N} \right)$$

3. Bioaccumulation par les lichens

3.1. Prélèvement

Toutes les étapes de prélèvement étant communes pour déterminer les teneurs en éléments traces métalliques. Il est important de prendre en considération toute contamination possible. Ainsi, le matériel non métallique utilisé est lavé à l'eau distillée entre chaque utilisation.

Les échantillons sont récoltés in situ à l'aide d'une pince en plastique et d'un couteau en céramique. Les échantillons composites représentatifs de la zone d'étude sont ensuite conservés jusqu'au laboratoire dans des sachets en papier préalablement étiquetés.

Le prélèvement des échantillons sur des troncs d'arbre et a été réalisée entre le mois d'octobre et décembre 2014 au niveau de 60 stations (Communes) de la région de Sétif.

3.2. Choix des phorophytes

L'arbre support sur lequel sont collectées les espèces corticoles est appelée phorophyte. La nature de l'essence servant de support (phorophyte) est considérée comme un facteur déterminant dans la distribution des lichens corticoles. Le prélèvement lichénique est effectué sur le tronc d'un arbre sain à 1m de hauteur et (afin d'éviter toute contamination du sol ou

animale). L'ensemble des orientations des troncs sont échantillonnées sans préférence pour éviter l'influence micro-météorologique (Purvis *et al.*, 2007). La totalité du thalle lichénique est prélevée car les éléments traces sont cependant plus concentrés dans les parties centrales du thalle, alors que les parties périphériques sont plus sensibles aux changements environnementaux (Godinho *et al.*, 2009). Pour être représentatif, les échantillons analysés sont constitués de plusieurs prélèvements sur différents arbres. Sur chaque arbre une dizaine de thalles lichéniques au minimum sont prélevés.

3.3. Espèces lichéniques utilisées

Le matériel végétal utilisé est le thalle des *Xanthoria parietina* (Figure 11). C'est un lichen à thalle foliacé, jaune orangé, à lobes plats de 1 à 6 mm de large arrondis aux extrémités. Les Apothécies sont généralement nombreuses dans la partie centrale, pouvant atteindre 4 mm de diamètre ; il présente un disque jaune-orangé à bord thallin persistant. On le retrouve sur tout substrat rocheux, acide ou calcaire, toits et troncs d'arbres



Figure 11 : *Xanthoria Parietina*.

- **Systématique :**

Règne : *Funji*

Division : *Ascomycota*

S/Embranchement : *Pezizomycotina*

Classe : *Lecanoromycetes*

Ordre : *Telochistales*

Famille : *Telochistaceae*

Genre : *Xanthoria*

Espèce : *Xanthoria parietina*.

Le choix de lichen foliacé *Xanthoria parietina* se fait selon plusieurs critères, en particulier:

- Une bonne accumulatrice d'éléments trace métalliques;
- Lichen foliacé facile à échantillonner
- Cosmopolite et répandu dans toutes les stations d'étude

3.4. Matériel utilisé

- Sachets en papier;
- ▪ Mètre ruban
- ▪ Une pince en plastique et couteau en céramique;
- ▪ Étuve pour le séchage;
- ▪ Un mortier en agate pour le broyage;
- ▪ Four à moufle pour la calcination;
- ▪ Une plaque chauffante;
- ▪ Des flacons de 50 ml;
- ▪ Acides (HNO₃, HF, ClHO₄);
- ▪ Un papier filtre Wattman de porosité 0,45 µm;
- ▪ Spectrophotométrie d'Absorption Atomique avec Flamme AA6200 (SAAF) .

3.5. Préparation des échantillons

Les échantillons de lichen, sont d'abord triés avec du matériel non métallique (pince en plastique et couteau en céramique) préalablement lavés à l'eau distillée, en retirant délicatement les débris végétaux, les espèces non souhaitées et les écorces.

3.5.1. La déshydratation

Les échantillons sont placés dans des boîtes de pétries en verre et placés dans l'étuve à une température de 105 °C pendant 72 heures, ensuite pesés.

3.5.2. Le Broyage

Cette étape est éminemment critique car elle peut être source de contaminations ou de pertes. Pour réduire l'échantillon en poudre très fine, un mortier en porcelaine a été utilisé.

3.5.3. La calcination

La poudre obtenue est calcinée à l'aide des capsules en quartz dans un four à moufle, dont la température est augmentée progressivement jusqu'à 500°C (de 02 heures jusqu'à 04 heures) pour s'assurer d'une meilleure calcination de l'échantillon

3.5.4. Stockage des échantillons

Une fois triés, déshydratés et broyés, les échantillons sont placés dans des sachets étanches, et stockés à l'abri de la poussière. Les échantillons ainsi conditionnés peuvent se conservés plusieurs mois, et sont prêts pour la minéralisation et le dosage chimique des métaux.

3.5.5. Minéralisation

Le but de la minéralisation est la destruction de la matière organique, puis la mise en solution des métaux organiquement liés par leur oxydation dans un milieu d'acide forts qui les transforme en ions métalliques libres.

La technique de digestion totale consiste à peser 0,5g d'échantillon broyé, lui ajouter 5ml d'acide fluorhydrique à (40%) et 1,5 ml d'acide perchlorique (HClO_4 à 70%) à chaud (160°C). Après évaporation quasi-totale, on ajoute un mélange de 0,5ml d'acide nitrique (HNO_3 à 65%) et 10ml d'eau distillée. On laisse l'échantillon pendant 30 min au froid, puis en le place à chaud à 60°C pendant 1 heure.

3.5.6. Filtrations

Les solutions obtenues des différentes minéralisations ont été filtrées en utilisant un papier filtre de porosité 0,45 μm . Elles ont été ajustées à 50ml puis elles ont été mises dans des tubes et conservées au frais jusqu'à analyse par spectrophotométrie d'absorption atomique.

3.5.7. Dosage des métaux

Le dosage des métaux est réalisé par la spectrophotométrie d'absorption atomique avec flamme (SAAF). Pour chaque concentration correspond une absorbance qui permet de tracer une courbe d'étalonnage. Cette dernière permettra de donner la concentration de chaque métal contenu dans les solutions préparées (Maatoug *et al.*, 2010).

L'analyse par SAAF pour mesurer les quantités des ETM est réalisée au laboratoire du département Chimie, Faculté des Sciences, Université Ferhat Abbas Sétif-1

4. Calcul des indices de bioaccumulations

4.1. Calcul de facteur de contamination (FC)

Le niveau de pollution atmosphérique par les ETM dans la zone d'étude a été déterminé par le facteur de contamination (FC), (Boamponsem *et al.*, 2010; Salo *et al.*, 2012; Bozkurt, 2017).

Le facteur de contamination est calculé Par l'équation suivante :

$$FC = C_s / C_b$$

C_s : la concentration de l'élément dans le lichen échantillonné.

C_b : la plus faible valeur de concentration détectée pour chaque métal.

4.2. Calcul d'Indice de charge de pollution (ICP)

L'indice de charge de pollution (ICP) des zones d'étude est calculé par l'équation de (Boamponsem *et al.*, 2010; Salo *et al.*, 2012; Bozkurt, 2017)..

$$ICP_{\text{zone d'échantillonnage}} = (FC_{Pb} \times FC_{Fe} \times FC_{Cr} \times FC_{Co} \times FC_{Ni} \times FC_{Cu} \times FC_{Zn})^{1/7}$$

Avec n = nombre d'éléments étudiés.

5. Analyses chimiques des lichens

5.1. Matériel végétales

Les échantillons de *Ramalina farinacea* et *Evernia prunastri* ont été récoltés dans les montagnes de Babors (Figure 12) en septembre 2014.

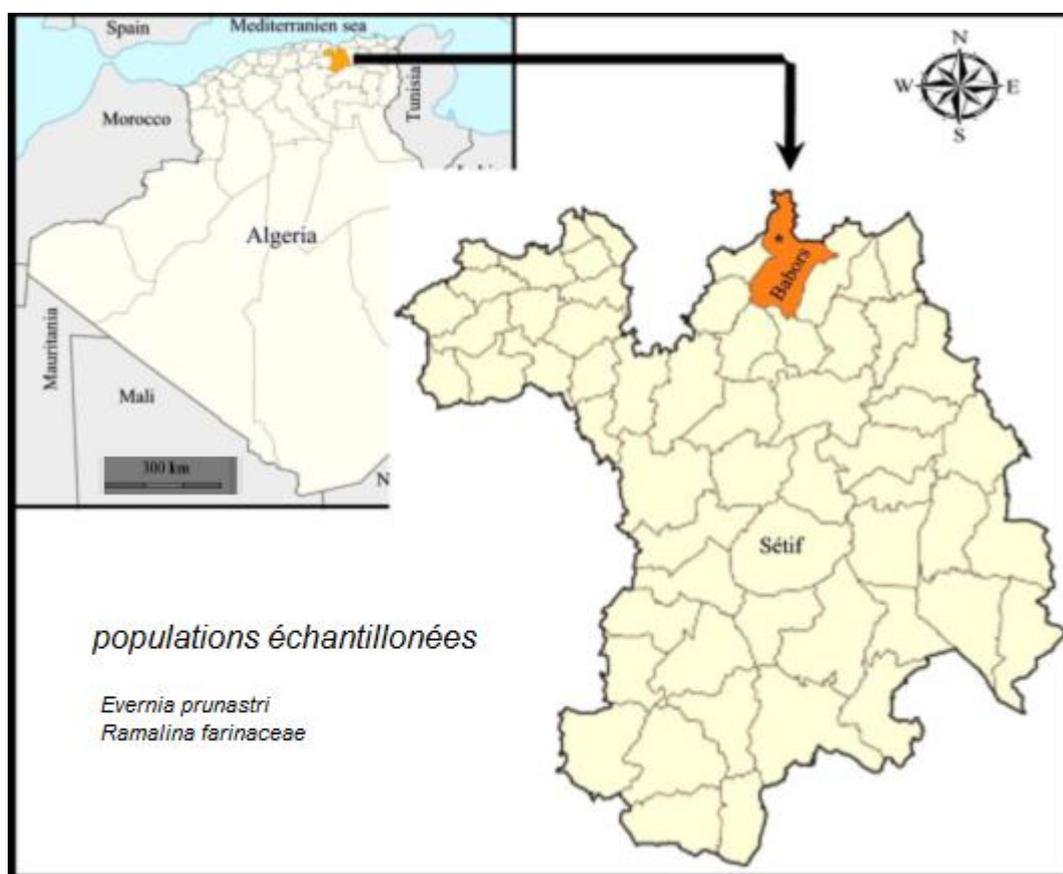


Figure12 : Zone d'échantillonnage des deux espèces lichéniques

5.2. Description botanique des espèces étudiées

5.2.1. *Ramalina farinacea*

Systematique

Phylum *Ascomycota*

Classe *Lecanoromycetes*

Ordre *Lecanorales*

Famille *Ramalinaceae*.

Genre *Ramalina*

Le lichen *Ramalina farinacea*, de la famille de *Ramalinaceae*, compte 9 genres qui se caractérisent par un thalle fruticuleux et presque ramifiée en plusieurs fourches. De 3 à 10 cm de long, et de 0,5 à 3 mm de large (Figure13). Peuvent être en lanières, fixé au substrat par un crampon ou des rhizines. Soralies blanchâtre farineuses bien délimitées (0,5-1 mm) souvent marginales et non confluentes. Apothécies rares, latérales.

Le genre *Ramalina* est vert jaunâtre. Ou vert blanchâtre, généralement aplatie. Il comprend presque 200 espèces presque toutes calcifuges, ou généralement corticole ou saxicoles.



Figure 13 : *Ramalina farinacea*

Cette espèce est caractérisée par une très large amplitude écologique, elle est parmi les *Ramalina* les plus fréquentes et les moins sensibles à la pollution (Van Haluwyn *et al.*, 2009).

5.2.2. *Evernia prunastri*

Evernia est un genre de lichen de la famille des *Parmeliaceae*. Bien que se soit un lichen, il est appelé mousse du chêne, mais on le trouve sur d'autres arbres comme le saule, le frêne et le pin, plus rarement sur les rochers (Figure 14). Utilisé dans la parfumerie, principalement dans les compositions de type fougère, chypre ou boisé.

Systematique

Phylum *Ascomycota*

Classe *Lecanoromycetes*

Ordre *Lecanorales*

Famille *Parmeliaceae*

Genre *Evernia*

Le lichen *Evernia prunastri* est un thalle fruticuleux à ramifications en lanières nombreuses plus ou moins pendantes et divisées de (1-6) cm de long pour 2 à 4 mm de large par ramification. La taille des lanières diminue progressivement à chaque ramification et brutalement à la dernière, donnant un aspect interrompu au thalle. La face supérieure est vert-grisâtre avec parfois un aspect marbré de blanc, elle peut être lisse ou plus ou moins ridée. La face inférieure est blanche du fait de l'absence du photobionte. Les bords des lanières sont parsemés de soralies. Les apothécies sont rares (Van Haluwyn *et al.*, 2009).



Figure 14 : *Evernia prunastri*

Cette espèce est très courante présentant une grande amplitude écologique. Espèce surtout corticole croissant sur des écorces neutres à acides. Peut aussi se trouver sur des piquets de clôture, au sol dans des landes, sur des sables en arrière-dune et parfois sur des roches siliceuses enrichies en nutriments (Van Haluwyn, 2009).

5.3. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger, il se compose d'un ballon qui sert comme un récipient pour le matériel végétal, porté sur un chauffe-ballon électrique. Ce ballon est surmonté par une colonne verticale terminée par une ouverture, un réfrigérant menant d'une voie d'admission et deux voies d'évacuation d'eau. Un robinet et une ouverture pour permettre le maintien du niveau de liquide dans le dispositif (Figure 15).

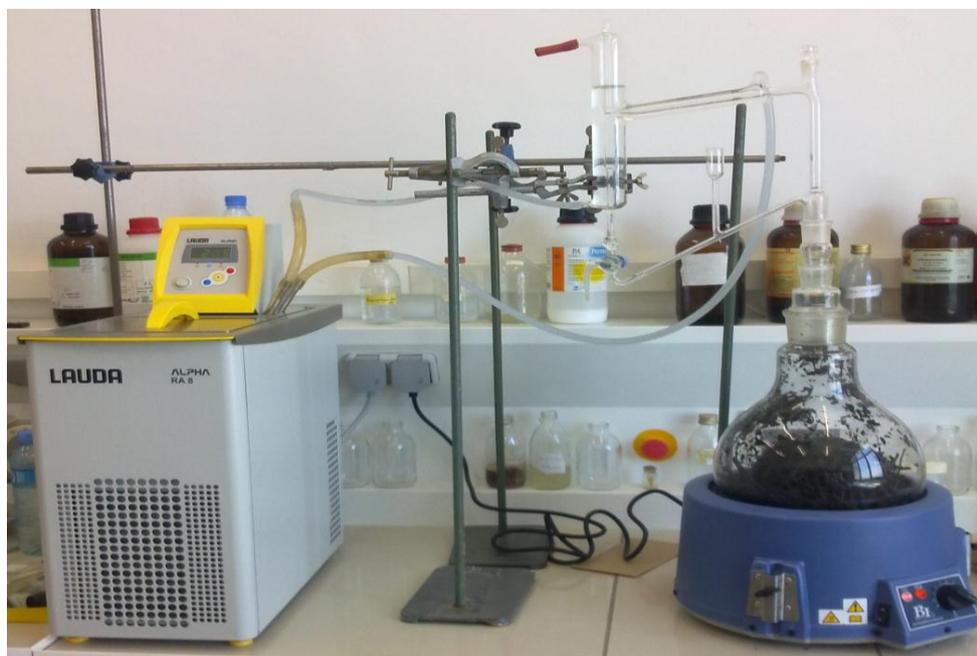


Figure15 : Dispositif d'extraction de type Clevenger

L'opération consiste à introduire 300 g de matériel végétal (coupé en petit morceau) dans le ballon, on y ajoute une quantité suffisante (3-4 litre) d'eau distillée, le mélange est porté à ébullition, les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical puis dans le serpentin de refroidissement où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli auparavant d'eau distillée. L'huile ainsi obtenue est récupérée et enfin conservée dans des flacons opaques bien scellés à température basse (4-5° C). L'opération d'extraction dure trois heures à partir du début d'ébullition.

Le rendement des huiles essentielles se calcule par le rapport entre la masse de l'huile essentielle extrait et la masse de la matière première végétale traitée. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$R = (MHE / MMV) \times 100$$

R : Rendement de l'extraction en %

MHE : masse de l'huile essentielle extraite en (g)

MMV : masse de matière végétale séchée en (g)

5.4. Analyse chimique des huiles essentielles

L'analyse des huiles essentielles a été réalisée dans le laboratoire de l'École d'ingénieurs SIGMA à Clermont Ferrand (France).

L'identification des constituants des huiles essentielles de *Ramalina farinaceae* et *Evernia prunastri* a été réalisée au moyen de la Chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée à la spectrométrie de masse (SM) et la détermination quantitative a été faite sur un appareil équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID).

5.4.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La méthode de dosage et d'identification, la plus couramment utilisée dans l'étude des huiles essentielles, est la chromatographie en phase gazeuse (CPG). Elle permet l'identification des composants et d'obtenir une valeur approximative de leurs concentrations. Cette méthode permet également de séparer de faibles quantités des différents composants de l'huile essentielle (Lucaccioni *et al.*, 1993).

Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse CG/MS. Chromatographe Hewlett-Packard HP 5890 couplé à un spectromètre de masse HP 5975.

Conditions opératoires

Colonne DB5 MS : (30m x 0,25mm), (épaisseur de film : 0,25m)

Gaz vecteur Hélium : 1.0 mL/min

Energie d'ionisation : 70eV

Température de l'injecteur : 250°C

Température du détecteur : 280°C

Programmation du four : 50°C (5min), 5°C/min de 50° à 300°C, 5min à 300°C

Injecteur mode split : (1: 30)

Chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme CPG/FID.
Chromatographe Hewlett-Packard HP 5890 équipé d'un détecteur à ionisation de flamme.

Conditions opératoires

Colonne DB5 : 30m x 0,25mm, épaisseur de film 0,25um

Gaz vecteur : Hydrogène : 1mL/min

Température de l'injecteur : 280°C

Température du détecteur : 300°C

Programmation du four : 50°C (5min), 5°C/min de 50° à 300°C ,5min à 300°C

Injecteur mode split : (1: 30)

En effet, dans les conditions de programmation de température constantes au CPG, le temps de rétention d'un composé reste également constant. Mais, en pratique, les conditions d'analyse varient beaucoup et, pour cette raison, le temps de rétention seul ne serait fiable. Avec l'introduction du système des indices de Kovats, l'identification des différents composés des huiles essentielles est devenue plus pratique. Le calcul des indices de Kovats se fait en utilisant les temps de rétention corrigés des deux alcanes qui encadrent le composé inconnu (Maarse et Belz, 1981).

Ces indices expriment la rétention d'un produit comparé à son homologue hydrocarbure linéaire, examiné dans les mêmes conditions de température.

L'identification des composés a été réalisée par comparaison de leurs spectres de masse et de leurs IK avec ceux des bases de données Adams et celle établie par le laboratoire d'accueil. Les résultats d'analyse sont traités par des techniques numériques d'analyse des données

5.5. Etude d'Activité antibactérienne

Des souches de bactéries à deux Gram négatif et à deux Gram positif ont été utilisées pour déterminer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *E. prunastri* et *R. farinacea*. Les bactéries utilisées dans l'étude sont les suivantes : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

5.5.1. Technique d'aromatogramme

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Ramalina farinacea* et *Evernia prunastri* réalisée par la méthode de diffusion de disque. Cette méthode se base sur la

diffusion de l'extrait testé dans la gélose. Elle consiste à utiliser des disques de papier imprégnés d'huile essentielle, puis disposés à la surface d'une gélose uniformément ensemencée avec une suspension bactérienne. Après incubation de 24h, les colonies se développent à la surface de la gélose laissant des zones vierges autour des disques appelées zones d'inhibition. On peut exprimer l'activité antimicrobienne en indiquant directement la zone d'inhibition en millimètre. Plus le diamètre de la zone d'inhibition est grand plus la souche est sensible, et plus le diamètre est petit, plus la souche est résistante (Figure. 16).

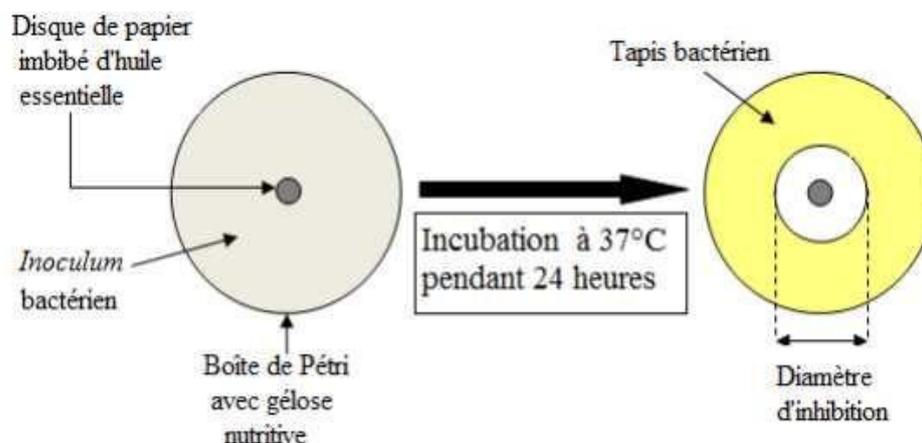


Figure16 : Principe de la méthode de diffusion de disque.

5.5.2. Mode opératoire

Le test est effectué en cultivant les bactéries sur un milieu Muller Hinton. La gélose de Muller Hinton stérile a été coulée dans des boîtes de pétrie stériles de 90 mm de diamètre, l'épaisseur de la gélose doit être de 2 mm et répartie puis séchées pendant 30 min à une température ambiante ; Les boîtes de gélose a ensemencées par un tapis bactérien de façon à recourir toute la surface gélosée.

5.5.2.1. Préparation de l'inoculum

Les bactéries à tester ont été ensemencées sur des boîtes de Pétri contenant des milieux sélectifs appropriés aux souches bactériennes utilisées puis incubés à 37°C pendant 24 heures, afin d'obtenir des colonies jeunes et bien isolées. Après ce temps d'incubation, 1 à 2 colonies bactériennes bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées à l'aide d'une anse de platine, puis émulsionnées dans un tube contenant 2 ml d'eau physiologique puis agiter au vortex.

5.5.2.2. Ensemencement

A l'aide d'un écouvillon stérile. Les bactéries sont ensemencé dans les boîtes de Pétri, de chaque suspension bactérienne préalablement préparée, ils sont distribués distinctement sur des boîtes gélosées de Mueller-Hinton puis homogénéisés dans tous les sens de sorte à couvrir toute la surface de la boîte gélosée. La suspension bactérienne est laissée au contact de la gélose pendant 1 mn puis l'excès de suspension est prélevé à l'aide d'une pipette pasteur stérile surmontée de poire. Les boîtes de gélose ainsi ensemencées sont laissées pendant 15 mn à la température du laboratoire.

5.5.2.3. Dépôt de disque

A l'aide d'une pince flambée au Bec Bensen, des disques stériles (6 mm) ont été placés sur la boîte gélose précédemment ensemencée, remplis de 10 µl de solution mère et d'huile essentielle diluée (1/1, 1/2 et 1/5, v/v de DMSO). Le DMSO a été utilisé comme témoin négatif, La boîte gélosée ainsi préparée est maintenue à la température du laboratoire pendant 30 mn afin de permettre la pré-diffusion. Ensuite, elle a été incubée à 37°C pendant 24 heures pour la lecture.

5.5.2.4. Lecture

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en mesurant la moyenne de deux diamètres perpendiculaires passant par le milieu du disque. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque souche et les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de l'huile essentielle

6. Techniques numériques d'analyse des données

6.1. Analyse en Composantes Principales (ACP)

L'analyse en composantes principales (ACP) est une méthode statistique d'analyse des données (initialement de statistique descriptive) qui consiste à rechercher les directions de l'espace qui représentent le mieux les corrélations entre les variables aléatoires. Donc le but est de comprendre et de visualiser comment les effets de phénomènes a priori isolés se combinent. Lorsqu'on veut compresser un ensemble de N variables aléatoires, les n premiers axes de l'ACP est un meilleur choix, du point de vue de l'inertie expliquée. Si on décide de ne retenir que les deux premiers axes de l'ACP, on pourra alors projeter notre nuage sur un plan,

et le visualiser. Même si l'ACP est majoritairement utilisée pour visualiser des données, il ne faut pas oublier que c'est aussi un moyen de décorrélérer les données, les axes qui ne sont utilisés c'est de l'information perdues c'est une classification des données en amas (clusters) corrélés.

6.2. Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean (UPGMA)

L'UPGMA est le nom d'un algorithme destiné à la construction d'un arbre phylogénétique. Cette méthode permet la transformation d'une matrice de distances (entre différents organismes, populations, ou séquences de nucléotides) en un arbre enraciné. C'est la méthode la plus simple de construction d'arbre. A l'origine elle a été développée pour construire les phénogrammes taxonomiques (arbres qui reflètent les similitudes phénotypiques entre unités taxonomiques), mais elle est employée aussi pour construire les arbres phylogénétiques si les taux d'évolution sont approximativement constants parmi les différentes lignées. Les analyses statistiques ont été réalisées en utilisant le logiciel (*STISTICA 10.*)

6.3. Cartographie

Le logiciel de système d'information géographique (*ArcGIS 10.2*) a été utilisé pour établir des cartes de distribution spatiales des éléments traces métalliques qui représentent la pollution atmosphérique, il transforme des données discrètes en un modèle distributionnel continu. Dans notre étude nous avons utilisé l'algorithme d'interpolation de pondération par l'inverse de la distance (**IDW**).

Chapitre III :

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

1. Résultats de la bioindication

1.1. Diversité lichénique

Les relevés lichéniques réalisés dans les stations étudiées, ont permis d'apprécier le recouvrement lichénique sur les arbres. 42 espèces épiphytes ont été identifiées dans les relevés échantillonnés (Tableau 5). Les communes les plus riches en espèces sont Beni Ourthilane, Bouselam, Serdj Elghoul, Ait Tizi et Maouklane, alors que les communes les plus pauvres en espèces sont les communes du sud de la région d'étude : Setif, El-eulma, El-hamma, Saleh bey, El-Ouldja, Bir El-Arch, Bazer Sakhra et Ain Lahdjer dont le nombre ne dépasse pas les 5 espèces. Une diminution de la richesse lichénique du nord vers le sud est constatée.

1.2. Abondance spécifique

L'abondance spécifique est caractérisée par la fréquence d'apparition de chaque espèce sur un site donné. La fréquence d'apparition des espèces montre une certaine variabilité (Figure 17). Cinq espèces sont dominantes: *Xanthoria parietina* ; *Caloplaca cerina*, *Physcia sciastra*, *Physcia tribacioides* et *Xanthoria polycarpa* avec des abondances élevées. L'abondance lichénique n'indique pas la représentativité d'une espèce entre les différents sites étudiés. En effet, une espèce abondante n'est pas forcément bien représentée entre les différents sites et réciproquement. C'est le cas, par exemple, de *Caloplaca cerina* n'étant relevée que sur la moitié des sites avec une forte fréquence de présence sur 27 stations

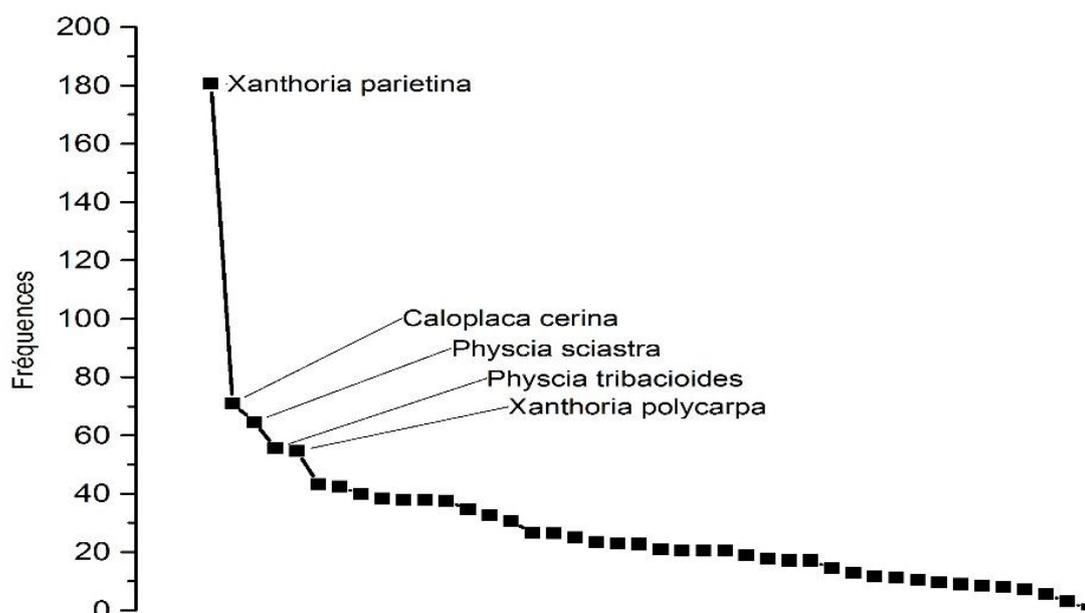


Figure17: Abondance lichénique dans la région de Sétif.

Tableau 5 : Fréquence des espèces lichéniques dans la région d'étude.

Communes Espèces	Beni ourthilane	Beni mouhli	Beni chebana	Bousselam	Ait nauoual m	Bounadas	Ait tizi	Ain lagredg	Draa kebila	tala ifacene	Guenzet	Harbil	Maouklane	Oued albare	Hammam gergour	Bougaa	tizi n'bachar	Babour	Beni oussine	Ain roua
<i>Arthonia radiata</i>	0	0	0	2,8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3,2	0	3,5	0	2	0	0
<i>Arthonia atra</i>	1,3	0	0	0	0	0	0	0	4,3	0	0	0	0	4,2	0	0	0	0,3	0	0
<i>Arctoparmelia centrifuga</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Buellia punctata</i>	0	0	0	0	0	0	2,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0,7	0	0,4	2	0
<i>Caloplaca cerina</i>	3,6	0	4,2	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	3	2,3	2,1	3,1	0	0	0
<i>Caloplaca citrina</i>	0	2,8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,2	0	0	0	1,4	0	0	0,7
<i>Caloplaca ferruginea</i>	1,6	0	0	0	3	2,2	0	0	2,5	0	6	0	0	3,7	0	0	0	1,3	0	0
<i>Caloplaca flavorubescens</i>	3	0	0	2,5	0	2,7	3	2,7	3	2,7	0	0	0	0	3	0	1,3	0	0	0,3
<i>Caloplaca viridirufa</i>	1,6	2,5	2,1	3	0	5	2	2,8	2	2	0	0	4,5	0	0	0	0	3,5	0	0
<i>Candelariella coralliza</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,3	0	0,3	0	0	0	0	1
<i>Candelariella aurella</i>	0	0	0	1	3,2	2,1	2,2	0	0	2,7	0	0	1,8	3,1	1,8	0	0	0	0	0
<i>Collema furfuraceum</i>	3,1	0	0	0	1	0	2,1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Diploicia canescens</i>	3,2	0	0	0	0	0	0	2,7	0	0	0	0	3,7	0	3,7	0	0	0	0	0
<i>Hypocomyce scalaris</i>	0	3,2	0	0	0	0	2,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lecanora dispersa</i>	0	0	0	4,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,7	1,8	1,2	1	1,2	2,2
<i>Lecanora badia</i>	2,7	2	0	3,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	1,8	0	2	0
<i>Lecanora chlorotera</i>	0	0	0	2,2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
<i>Lecanora conizaeoides</i>	0	0	0	0	0	0	1,5	0	0	0	3,2	3,2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lecanora gangaleoides</i>	0	0	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lecanora muralis</i>	3	0	2,3	2,8	0	0	2,5	0	0	0	2,3	0	0	0	3	2,3	0	0,8	0	4,5
<i>Lecidella elaeochroma</i>	0	0	0	0	4,7	6	0	0	0	0	0	0	0	7,7	0	0	0	0	0	0
<i>Ochrolechia arborea</i>	5,5	0	3,2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
<i>Ochrolechia parella</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,7	0	0,7	2	0	1,2	0	0
<i>Flavoparmelia caperata</i>	0	2,5	0	0	0	2,8	0,8	0	0	0	0	0	0	0	0	2,3	0,3	0	3,2	0
<i>Parmelia saxatilis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,3	0	0,3	0	0	0	0,2	0
<i>Parmelina pastillifera</i>	0	2,8	5,5	0	4,3	0	2,7	0	1,7	0	5,5	0	1,3	0	0	1,2	0	0	0	0,2
<i>Parmelia sulcata</i>	3	0	2,3	2,8	0	0	2,5	0	0	0	2,3	0	0	0	0	2,3	0	0,8	0	4,5
<i>Parmelia revoluta</i>	2,7	2	0	3,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	1,8	0	2	0
<i>Parmotrema perlatum</i>	0	1,9	0	0	0	0	0	0	0	0	1,9	0	0	0	0	1,9	0,3	0	0	0
<i>Hypogymnia physodes</i>	2,2	6,2	2,2	5	0	0	0	0	0	0	2,2	2,2	3	0	0	0	0	0	4,2	2,2
<i>Physcia stellaris</i>	1,3	5	0	0	0	0	3,2	2,8	2,7	0	0	0	0	0	0	0	0,8	0	0	0
<i>Physcia tenella</i>	0	0	0	0	0	2,5	0	0	2,7	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
<i>Physcia caesia</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Physcia sciastra</i>	5,1	0	5,8	4,7	5,3	3,1	0	3,2	4,7	3,2	5,8	3,8	2	5,7	0	0	0	1,6	0	2,2
<i>Physconia grisea</i>	0	0,8	2	0	3,7	2,3	2,5	2	2	0	2	2	0	3	0	0	0	0	0,3	0
<i>Physcia tribacioides</i>	0	2,8	2,8	1,5	2,7	4,7	0	4,7	2,2	4,7	0	0	2,7	0	2,7	5	0	0	3	0
<i>Punctelia subrudecta</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Ricasolia amplissima</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0,3	0
<i>Umbilicaria polyphylla</i>	3,2	0	0	2	0	0	2,8	0	1,5	0	2,8	2,8	0	0	1,3	0	0	0	0	1,2
<i>Xanthoria aureola</i>	2,6	0	0	0	0	6	0	1,5	0	0	0	0	2	0	2	3	0	0	0	0
<i>Xanthoria parietina</i>	7,8	7,3	6,2	7,7	7,8	2,8	2,8	3,3	5,8	4,8	6,2	5,2	4	10	0	2,2	3,2	1,6	3,3	3,2
<i>Xanthoria polycarpa</i>	1,2	0	4,7	3	2,8	0	0	0	1	2,8	4,7	4,7	0,7	0	0,7	0	1	8	0	0
Nombre d'espèce	19	13	12	18	10	12	15	10	13	7	13	8	15	9	15	15	13	12	11	11

Suite tableau 5.

Communes Espèces																				
	Ain abbassa	Amoucha	Ouled adouane	Ain lekbara	Serdje algoule	Beni aziz	Ain assabt	Dhamcha	Maouia	Ain arnet	Ourissia	Beni fouda	Djemila	Mezloug	Setif	Ouled saber	Guelta zarga	Tachouda	Kasr el-abtal	Guellet
<i>Arthonia radiata</i>	0	0	0	0	0	1,6	0	0	0	0	0	0	0	1,3	0	0	0	0	0	0
<i>Arthonia atra</i>	0	0	0	0	1,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Arctoparmelia centrifuga</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Buellia punctata</i>	0,3	0	1,1	0,8	0	0	0	0	0	0	0,2	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Caloplaca cerina</i>	3,2	2,6	0	1,6	4,5	2,7	0	4,6	0	2	1,6	2,6	1,3	2,1	0	2	2,3	1,6	0	2
<i>Caloplaca citrina</i>	0	0	1,3	0	0,3	0	0	0	0	0,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Caloplaca ferruginea</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,6	0	0	0	1,1	0	0	0	0	0	0
<i>Caloplaca flavorubscens</i>	3,2	0	0	0	3,2	1,8	0,5	0,3	0	0,3	0,3	0	0	0	0	0	0,3	0	0,3	0
<i>Caloplaca viridirufa</i>	0	0	1,8	0	0	2,8	1,8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Candelariella coralliza</i>	0	0	0,3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Candelariella aurella</i>	0	0	0	0	0,8	0	1,5	0	1,7	0	0	0	0	0	1,8	0	1,7	0	0	0
<i>Collema furfuraceum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Diploicia canescens</i>	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3,1	0	0	0	0	0	0
<i>Hypocomyce scalaris</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lecanora dispersa</i>	0	1	0,8	0,5	0,3	0	0	0	0	1,1	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lecanora badia</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,8	0	0	0	0	0	0,1	0	0	0	5,1
<i>Lecanora chlorotera</i>	0	0	0	0	0,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lecanora conizaeoides</i>	0	0	0	0	0	2,7	2,2	1	0	0	1	1,2	0	0,3	0,1	0	0	0,6	1	0
<i>Lecanora gangaleoides</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lecanora muralis</i>	0	0	0,6	1,5	0	0,2	0	3	0	0	3	0	0	0	0	0	0	1,1	3	0
<i>Lecidella elaeochroma</i>	1,2	0	0	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,6
<i>Ochrolechia arborea</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2,3	0	0	0	0
<i>Ochrolechia parella</i>	2,2	0	1,1	0	4,8	0	0	0,1	0,7	0	0,1	0	0	3	0	0	0	0	0	0
<i>Flavoparmelia caperata</i>	1,8	0	0	0	0	0	0	0	0	0,3	0	0	0	0	0	0	0,2	0	0	0
<i>Parmelia saxatilis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,3	0	0	4,5	0	0	0
<i>Parmelina pastillifera</i>	0	0	0	1,1	1,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Parmelia sulcata</i>	0	0	0,6	1,5	0	0,2	0	3	0	0	3	0	0	0	0	0	0	1,1	3	0
<i>Parmelia revoluta</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,8	0	0	0	0	0	0,1	0	0	0	5,1
<i>Parmotrema perlatum</i>	0	0	1,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,6	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hypogymnia physodes</i>	0	0	0	0	0	0	0	1,1	0	0	1,7	0	0	0	1,7	0	0	0	0,2	0,5
<i>Phycia stellaris</i>	0,5	0	0	1,1	0,3	0	0	0	0	0,8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Phycia tenella</i>	3,3	0	0	3,3	0	0	0	0	0	1	0	0	2,3	0	0	4,6	0	0	0	0
<i>Phycia caesia</i>	2,3	0	0	1,1	2,6	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Phycia sciastra</i>	0	5,6	0	0,3	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0,3	0	0	0	0
<i>Physonia grisea</i>	0,3	0	0	0	1,1	0	0	0	0	0	0	0,2	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Phycia tribacioides</i>	0	0	0,8	0	0	2,2	0	0	0	0	0	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Punctelia subrudecta</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Ricasolia amplissima</i>	0	0	0	0	1,8	0	0	0	0	1	0	0	0	1,1	0	0	0	0	0	0
<i>Umbilicaria polyphylla</i>	2,2	0	0,3	0	0,8	1	0,2	0	0	0	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Xanthoria aureola</i>	0	0	1,5	2,5	0	0	4	1,8	4	0	1,8	2,7	1	0	0	0	0	0,8	0,8	0
<i>Xanthoria parietina</i>	2,5	10	3,3	3,1	3,3	0	2,5	0	3,3	3,1	0	2	2,5	1,6	1,1	0	0	2,3	0	0,6
<i>Xanthoria polycarpa</i>	0	0	4,8	3,1	3,3	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	3	0	0
Nombre d'espèce	13	4	14	14	16	10	8	8	4	12	8	8	10	4	6	5	8	6	6	6

Suite tableau 5

Communes Espèces																				
	Guedjel	El-eulma	Bellaa	Ouled si ahmed	Ain oulmene	Bir haddada	Ain lahder	Bazer sakhra	Bir el-arch	El louldja	Ouled tabene	El rasfa	Saleh bey	Ain azel	Hammam soukhna	Boutaleb	El hamma	Bida bordj	Tella	Taya
<i>Arthonia radiata</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Arthonia atra</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Arctoparmelia centrifuga</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,8	4,7	0,0	0,0	0,0
<i>Buellia punctata</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Caloplaca cerina</i>	0,0	0,0	2,0		2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	2,3	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Caloplaca citrina</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Caloplaca ferruginea</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Caloplaca flavorubescens</i>	0,3	0,0	0,0	2,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,0	0,3
<i>Caloplaca viridirufa</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Candelariella coralliza</i>	1,0	1,0	1,0	0,0	1,0	1,0	1,2	1,5	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	1,0	1,0	1,0	1,5	0,0	1,5
<i>Candelariella aurella</i>	0,7	0,0	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,5	0,0	0,7
<i>Collema furfuraceum</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Diploicia canescens</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	1,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Hypocomyce scalaris</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Lecanora dispersa</i>	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Lecanora badia</i>	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Lecanora chlorotera</i>	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Lecanora conizaeoides</i>	0,0	0,3	0,0	0,0	2,3	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0
<i>Lecanora gangaleoides</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Lecanora muralis</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Lecidella elaeochroma</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	1,8	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0
<i>Ochrolechia arborea</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Ochrolechia parella</i>	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Flavoparmelia caperata</i>	0,0	0,0	3,0	1,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Parmelia saxatilis</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0	0,0	0,7	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	0,0	1,2	0,0
<i>Parmelina pastillifera</i>	3,2	0,3	1,8	0,5	0,0	0,0	0,0	1,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	0,0	0,0	0,0	1,2	0,0	0,0
<i>Parmelia sulcata</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Parmelia revoluta</i>	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Parmotrema perlatum</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Hypogymnia physodes</i>	0,0	0,0	1,2	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3
<i>Physcia stellaris</i>	0,0	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	2,3	0,0	0,5	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Physcia tenella</i>	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Physcia caesia</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	4,5	0,0	0,0	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Physcia sciastra</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Physconia grisea</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	1,5	0,0	0,5	0,0	1,3	1,5
<i>Physcia tribacioides</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,5	2,5	0,0	0,0	0,0	1,5	0,0	0,0	2,0	2,0	0,0	0,0
<i>Punctelia subrudecta</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Ricasolia amplissima</i>		0,5	0,0	1,3	0,3	3,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,8	6,8	3,0	4,8	3,3	0,0	2,0	4,3	4,0
<i>Umbilicaria polyphylla</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,7	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Xanthoria aureola</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Xanthoria parietina</i>	5,2	3,0	1,0	2,0	2,8	3,5	2,7	1,7	3,7	3,0	0,0	0,5	0,0	0,7	1,5	3,7	0,0	3,7	2,0	3,0
<i>Xanthoria polycarpa</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,0	0,0
Nombre d'espèce	5,0	9,0	9,0	7,0	5,0	7,0	5,0	6,0	5,0	4,0	4,0	6,0	4,0	6,0	8,0	8,0	4,0	7,0	5,0	7,0

1.3. Types physiologiques

Les relevés lichéniques dans les 60 stations montrent une diversité morphologique importante (Tableau 6).

Tableau 6 : Familles lichéniques

Familles	Espèces	Type de thalle
Arthoniaceae	<i>Arthonia radiata</i> (Pers.) Ach. <i>Arthonia atra</i> (Pers.) A.	Crustacés
Physciaceae	<i>Amandinea punctata</i> (Hoffm.) <i>Diploicia canescens</i> (Dicks.)	
Teloschistaceae	<i>Caloplaca cerina</i> (Ehrh. ex Hedw.) <i>Caloplaca citrina</i> s.l. (Hoffm.) <i>Caloplaca ferruginea</i> (Huds.) <i>Caloplaca flavorubescens</i> (Hudson) <i>Caloplaca Viridirufa</i> Müll	
<i>Lecanoraceae</i>	<i>Lecanora dispersa</i> (Pers.) <i>Lecanora gangaleoides</i> Nyl. <i>Lecanora muralis</i> (Schreb.) <i>Lecanora Badia</i> (Hoffm.) Ach. <i>Lecanora chlarotera</i> Nyl <i>Lecanora conizaeoides</i> Nyl.	
Lecideaceae	<i>Lecidella elaeochroma</i> (Ach.)	
Ochrolechiaceae	<i>Ochrolechia arborea</i> (Kreyer) <i>Ochrolechia parella</i> (L.)	
<i>Collema</i> aceae	<i>Collema furfuraceum</i> (Arnold)	
Lobariaceae	<i>Ricasolia amplissima</i> (Scop.)	Foliacés
Umbilicariaceae	<i>Umbilicaria polyphylla</i> (L.)	
<i>Parmeliaceae</i>	<i>Arctoparmelia centrifuga</i> (L.) <i>Flavoparmelia caperata</i> (L.) <i>Parmelia saxatilis</i> (L.) <i>Parmelina pastillifera</i> (Harm.) <i>Parmelia sulcata</i> Taylor <i>Parmelia revoluta</i> Flörke) <i>Parmotrema perlatum</i> (Huds) <i>Hypogymnia physodes</i> (L.) Nyl. <i>Punctelia subrudecta</i> (Nyl.)	
<i>Physciaceae</i>	<i>Physcia tenella</i> (Scop.) <i>Physcia caesia</i> (Hoffm.) <i>Phaeophyscia sciastra</i> (Ach. <i>Physcia stellaris</i> (L.) Nyl. <i>Physconia grisea</i> (Lam.) <i>Physcia tribacioides</i> (L.) Nyl	
<i>Teloschistaceae</i>	<i>Xanthoria polycarpa</i> (Hoffm.) <i>Xanthoria parietina</i> (L.). <i>Xanthoria aureola</i> (Ach.)	
<i>Ophioparmaceae</i>	<i>Hypocenomyce scalaris</i> (Ach.)	
<i>Candelariaceae</i>	<i>Candelariella vitellina</i> (Hoffm.) <i>Candelariella aurella</i> (Hoffm.)	

Les types physiologiques présentent une nette dominance des thalles foliacés avec une fréquence de 50% soit 21 espèces. Les thalles crustacés, avec une fréquence de 24,86%, sont représentés par 18 espèces. Par ailleurs, les thalles granuleux et squamuleux sont les moins représentés (Figure 18).

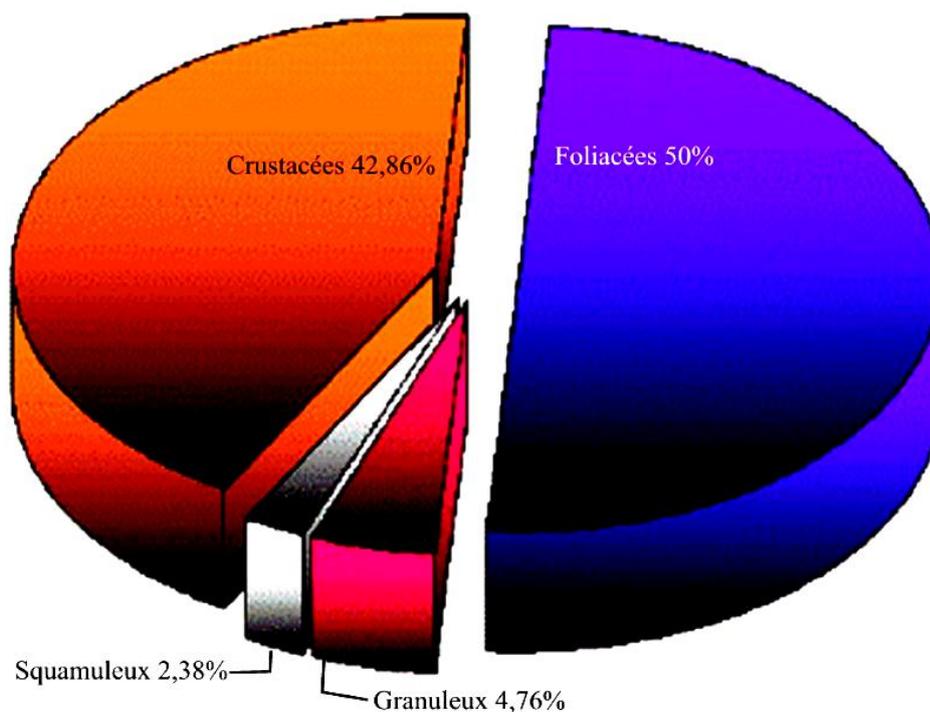


Figure 18 : Proportion des types physiologiques de thalles lichéniques.

42 espèces de lichens sont recensés, appartenant à 12 familles (Figure 19). Ces familles peuvent être rassemblées en trois groupes bien distincts. Le premier groupe renferme les familles *Parameliaceae*, *Physciaceae*, *teloschistaceae*, *Lecanoraceae* avec chacune un nombre d'espèces supérieures à 6. Le deuxième groupe réunit les *Arthoniaceae*, *Ochrolechiaceae*, *Candelariaceae* avec 2 espèces et le troisième groupe de lichens rassemble les familles les moins représentées, avec une seule espèce, *Lecideaceae*, *Collemataceae*, *Lobariaceae*, *umbilicariaceae*, *Ophioparmaceae*

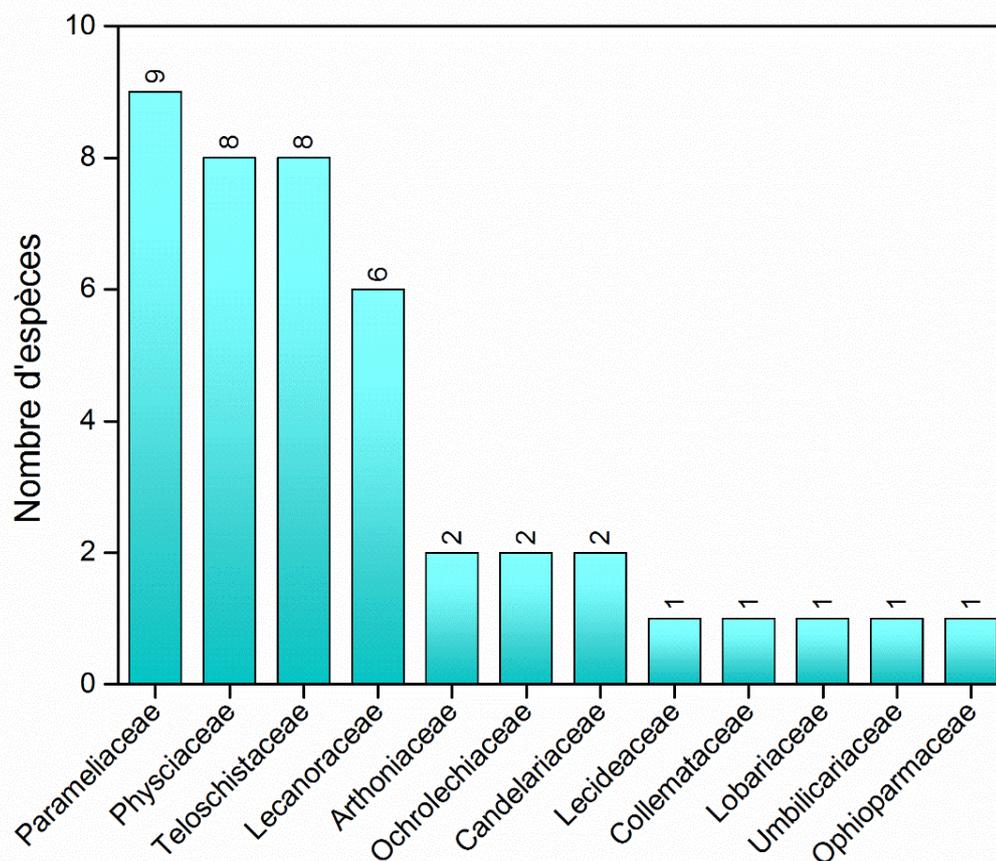


Figure 19 : Familles lichéniques recensées dans la région de Sétif.

1.4. Les indices écologiques

1.4.1. Indice de Shannon (H')

L'indice de Shannon (H') montre une variabilité dans la région d'étude avec une moyenne de $2,44 \pm 1,13$ et un coefficient de variation (46,31) (tableau 7). Les grandes valeurs de l'indice (H') ont été enregistrées dans les zones rurales avec la valeur la plus élevée 5,21 qui a été enregistrée dans Beni Ourthilane. Les faibles valeurs de l'indice (H') ont été comprises entre 0,12 et 1,89, enregistrées dans les stations de Bir El-Arch, El Ouldja, Ouled Tabene, El Rasfa, Saleh Bey, Maouia, Setif, El-Eulma, Ouled Saber.

Le calcul des indices de pureté atmosphérique (IPA), et de qualité de l'aire (IQA) et l'indice de diversité des lichens (VDL), nous a permis d'estimer la pollution de l'air dans la région de Sétif.

1.4.2. Indices de la pureté de l'air et de la qualité de l'air (IAP) et (IQA)

Les valeurs de l'IPA varient entre 4,55 et 64,70 et les valeurs de l'IQA varient entre 4,87 et 58. Les valeurs minimales et maximales sont observées dans les 2 stations de Beni Ourthilane et Setif. L'estimation de la qualité de l'air dans chaque station est basée sur ces indices (Tableau 7). Plus ces indices sont élevés plus la pollution est faible et l'aire est pure. Plus les indices sont faibles plus la pollution atmosphérique est élevée et la qualité de l'aire est mauvaise.

Tableau 7 : Indices écologiques

<i>Stations</i>	<i>Diversité spécifique</i>	<i>Indice de Shannon</i>	<i>IPA</i>	<i>IQA</i>	<i>VDL</i>
Beni ourthilane	19	5,21	64,70	58,00	116
Beni mouhli	13	4,04	45,48	41,80	83,6
Beni chebana	12	4,03	46,69	43,36	86,72
Bousselam	18	5,08	64,22	56,60	113,2
Ait nauoual mezada	10	3,28	39,69	38,50	77
Bounadas	12	4,05	44,06	42,20	84,4
Ait tizi	15	4,31	39,32	35,86	71,72
Ain lagredg	10	3,34	28,91	26,73	53,46
Draa kebila	13	3,99	40,17	36,10	72,2
tala ifacene	7	2,34	24,08	22,90	45,8
Guenzet	13	4,30	51,38	47,90	95,8
Harbil	8	2,68	29,35	28,90	57,8
Maouklane	15	3,52	32,00	29,20	58,4
Oued Elbared	9	2,49	45,04	43,66	87,32
Hammam guerguor	15	3,36	27,95	25,53	51,06
Bougaa	15	3,81	34,76	31,36	62,72
tizi n'bachar	13	2,86	19,53	18,26	36,52
Babour	12	2,71	26,75	22,53	45,06
Beni oussine	11	2,80	23,01	21,70	43,4
Ain roua	11	2,86	24,29	22,20	44,4
Ain abbassa	13	3,12	24,09	23,20	46,4
Amoucha	4	2,17	19,10	19,33	38,66
Ouled adouane	14	2,89	23,59	20,22	40,44
Ain lekbira	14	3,29	25,17	23,50	47
Serdje algoule	16	3,47	32,25	30,47	60,94
Beni aziz	10	2,65	17,20	16,54	33,08
Ain assabt	8	2,35	15,00	14,83	29,66
Dhamcha	8	2,14	15,45	15,17	30,34
Maouia	4	0,83	9,81	9,83	19,66
Ain arnet	12	2,62	16,41	15,49	30,98
Ourissia	8	2,20	13,30	12,69	25,38
Beni fouda	8	2,07	10,85	11,10	22,2
Djemila	8	2,56	19,63	17,23	34,46
Mezloug	10	2,58	16,13	15,33	30,66

Suite tableau 7

Setif	4	1,22	4,55	4,87	9,74
Ouled saber	6	1,29	10,62	9,67	19,34
Guelta zarga	5	1,12	8,99	9,03	18,06
Tachouda	8	2,32	12,53	11,83	23,66
Kasr el-abtal	6	1,52	9,07	8,30	16,6
Guellet	6	1,32	15,69	14,18	28,36
Guedjel	5	1,02	10,28	10,37	20,74
El-eulma	9	1,38	6,55	6,40	12,8
Bellaa	9	2,38	12,36	12,30	24,6
Ouled si ahmed	7	2,51	11,76	11,90	23,8
Ain oulmene	5	1,54	7,46	8,40	16,8
Bir haddada	7	1,89	10,34	11,40	22,8
Ain lahdjer	5	2,09	11,00	10,70	21,4
Bazer sakhra	6	2,31	9,62	9,30	18,6
Bir El-Arch	5	1,15	8,82	8,70	17,4
Elouldja	4	1,33	6,97	7,80	15,6
Ouled tabene	4	1,29	8,94	9,30	18,6
El Rasfa	6	0,21	9,36	10,20	20,4
Saleh Bey	4	0,12	11,59	12,40	24,8
Ain Azel	6	2,25	11,14	11,70	23,4
H.soukhna	8	0,31	12,23	13,33	26,66
Boutaleb	8	2,30	13,47	14,83	29,66
El hamma	4	1,12	9,56	10,16	20,32
Bida Bordj	7	2,47	13,34	14,10	28,2
Tella	5	1,72	12,26	12,33	24,66
Taya	7	2,02	11,31	12,30	24,6
Moyenne	9,06	2,44	21,31	20,233	40,46
Écart type	3,91	1,13	14,45	12,88	25,77
Min.	4	0,12	4,55	4,87	9,74
Max.	19	5,21	64,7	58	116
CV	43,15	46,31	67,8	63,66	63,69

1.4.3. Indice de diversité lichénique (VDL)

L'indice (VDL) montre une variation importante dans la région d'étude avec une moyenne de $40,46 \pm 25,77$, et un CV de 63,69%. Les valeurs les plus basses du (VDL) ont été enregistrées à El-eulma et Sétif, indiquant une très faible diversité lichénique. D'autre part, les stations avec des valeurs élevées du (VDL) sont Beni Ourthilane, Bouselam, Beni Mouhli, Beni Chebana et Bounadas. La VDL indique que ces stations sont caractérisées par une diversité lichénique importante, ce qui a permis de les classées selon l'échelle de (Loppi *et al.*, 2002) (tableau 8).

Tableau 8 : Classement des stations d'étude selon la VDL.

Stations	Classes	Sous -classes	VDL
Beni Ourthilane, Bousselam, Guenzet	Naturalité	Naturalité	> 90
Beni Mouhli, Beni Chebana, Ait Nauoual Mezada, Bounadas, Oued Elbared	Semi-naturalité	Moyenne naturalité	76-90
Ait Tizi ; Draa Kebila, Bougaa, Serdje Algoule		basse naturalité	61-75
Ain Lagredg, Harbil ; Maouklane, Hammam Guerguor, Babour, Ain Abbassa, Beni Aziz, Tala Ifacene	Semi-alteration	basse alteration	60-46
Tizi N'bachar ; Beni Oussine ; Ain Roua, Amoucha, Ain Assabt, Ain Lekbira, Dhamcha, Djemila ; Ain Arnet		Moyenne alteration	45-31
Ouled Adouane, Maouia, Ourissia ; Beni Fouda; Mezloug, Ouled Saber, Guelta Zarga, Tachouda, Kasr El-Abtal, Guellel, Guedjel, Bellaa, Ouled Si Ahmed, Ain Oulmene, Bir Haddada, Ain Lahdjer, Bazer Sakhra, Bir El-Arch, Ouled Tabene, El Ouldja, El Rasfa, Saleh Bey, Ain Azal, H.Soukhna, Boutaleb ,El Hamma, Bida Bordj, Tella , Taya	Alteration	Haute alteration	30-16
Setif, El-Eulma		Très haute alteration	1-15

Pour chercher les relations qui existent entre les indices de bioindication et les stations d'études nous avons fait appel à des analyses statistiques.

1.5. Analyse en composantes principales (ACP)

L'analyse statistique (Box whisker) montre une variabilité très importante des indices calculés pour les différentes stations échantillonnées (Figure 20). L'indice de valeur de la diversité du lichen (VDL) montre plus de variation, suivi par l'indice de pureté atmosphérique (IAP) et l'indice de qualité de l'air (IQA). Les deux autres indices, l'indice de diversité spécifique et l'indice de Shannon (H'), présentent une très faible variabilité.

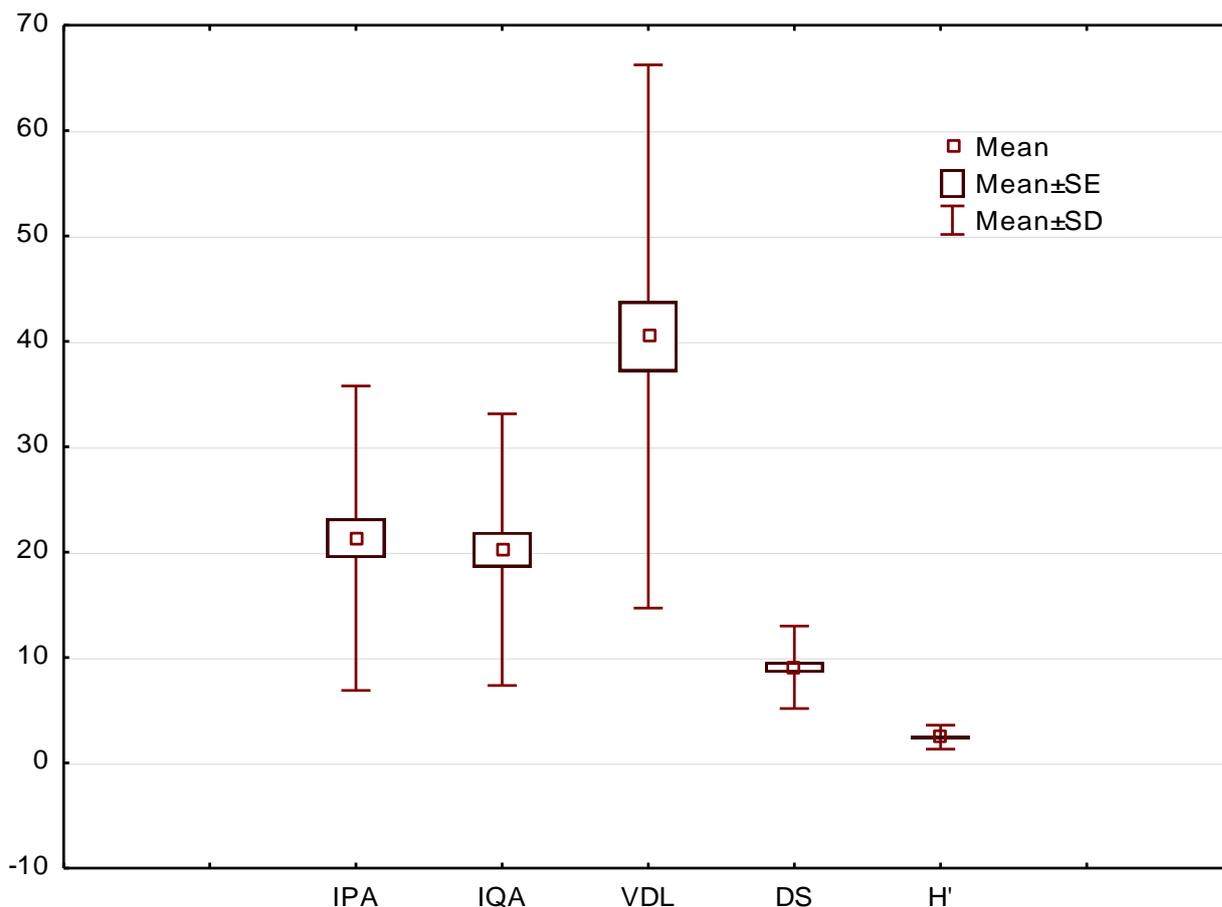


Figure 20 : Variabilité des indices de biodiversité et de bioindication.

1.5.1. Etude des variables

1.5.1.1. Matrice de corrélation

L'examen de la matrice fait apparaître des corrélations significatives avec un pourcentage de 66 ;67. (Tableau 9).

Tableau 9 : Matrice de corrélation des indices de biodiversité et de bioindication.

<i>Corrélations</i>					
<i>Variable</i>	IPA	IQA	VDL	DS	H'
IPA	1				
IQA	0,997	1			
VDL	0,997	1	1		
DS	0,80	0,78	0,78	1	
H'	0,87	0,86	0,86	0,87	1

*Valeurs de signification : $S \geq 0,87$. $HS > 0,95$

1.5.1.2. Cercle des corrélations

Les valeurs propres représentant la variance des indices sur les axes sont élevées, 90,49% pour le premier axe, 7,08% pour l'axe deux et 2,38% pour l'axe trois, donnant ainsi une bonne contribution à la variance totale. L'ensemble de l'information expliquée par les trois premiers axes issus de l'ACP est de 99,95%.

La représentation du plan formée par les deux premiers axes principaux plan 1x2 (Figure 21) montre que l'ensemble des indices contribue fortement à la formation de l'axe 1. La partie négative de l'axe est expliquée par la présence des indices de bioindication (IQA) et (IPA) et les indices de biodiversité VDL, H', et l'indice de diversité spécifique (DS).

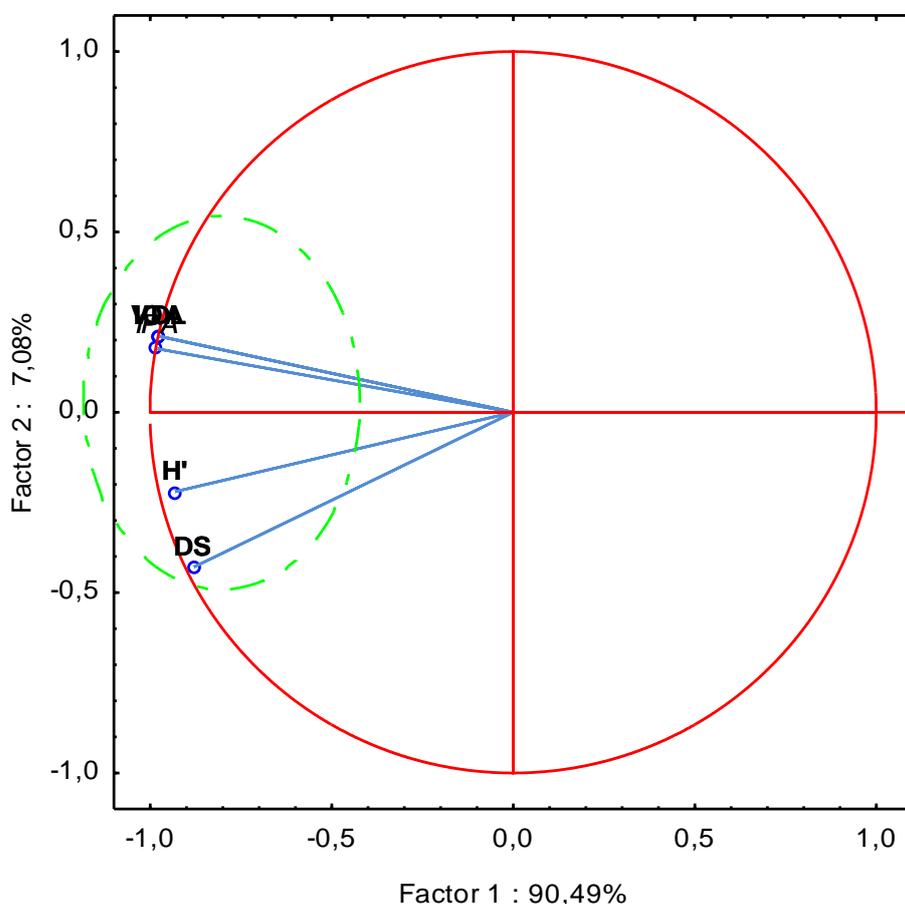


Figure 21 : Cercle des corrélations, projection des variables sur le plan (1x2).

1.5.2. Etude des individus

La représentation du plan 1x2 des stations (Figure 22) montre que les stations sont réparties sur les trois axes issus de l'ACP.

La séparation des sites n'étant pas claire, les stations localisées sur la partie négative de l'axe 1 représentent par les communes du nord (Oued Elbared, Ait Nauoual Mezada, Genzet, Beni Chebana, Beni Mouhli, Bousselam, Beni Ourthilane, Draa Kbila, Ain Legredg, Bouandas,) qui sont caractérisées par la valeur élevée de tous les indices utilisés, indiquant que ces zones sont moins polluées. Les communes De Hammam Soukhna, El Rasfa et Saleh Bey, sont confinées sur la partie positive de l'axe 3, les résultats de l'analyse n'ont pas permis une bonne caractérisation des stations (Figure 23).

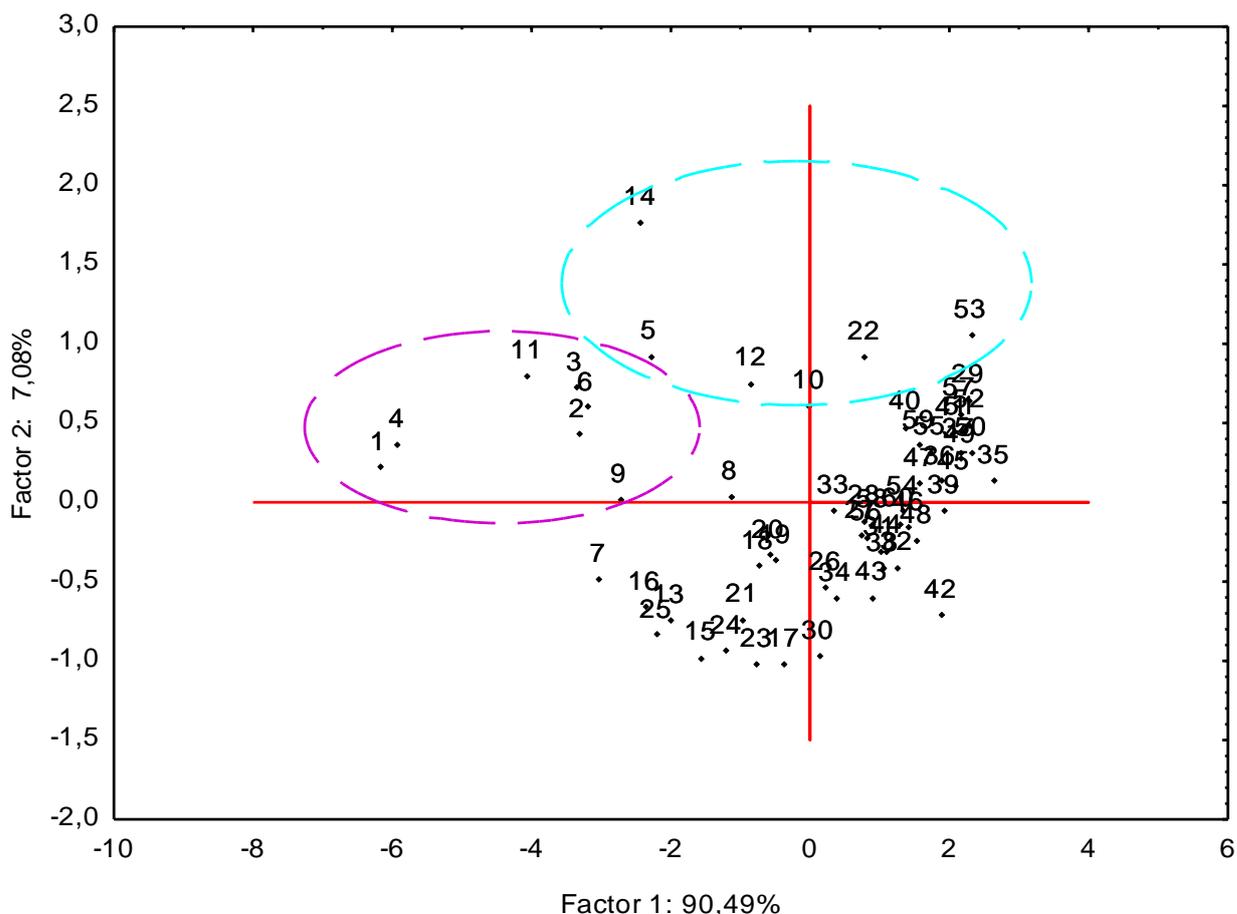


Figure 22 : Projection des communes, sur le plan 1-2 issu de l'ACP.

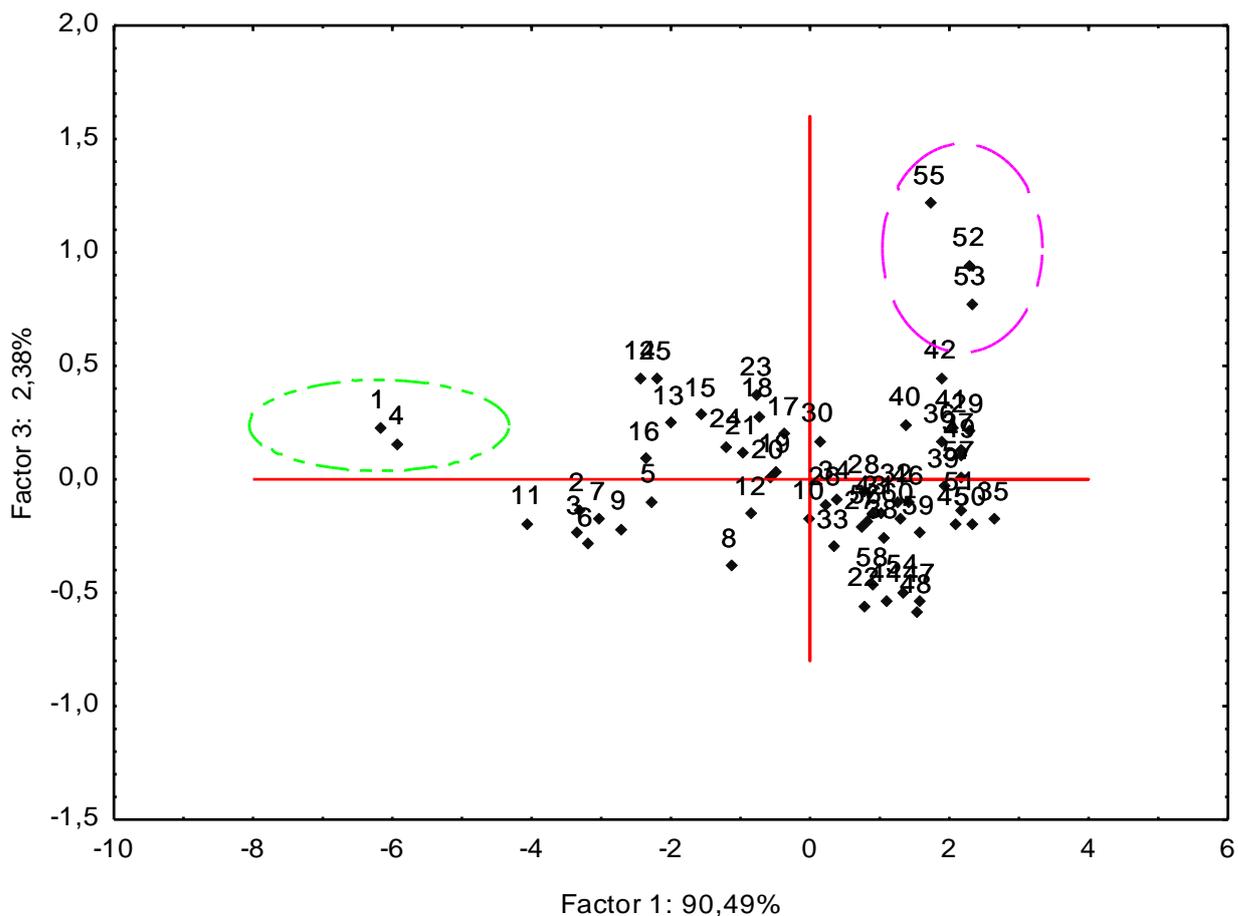


Figure 23: Projection des communes, sur le plan 1-3 issu de l'ACP.

1.5.2.1. Projection spatiale tridimensionnelle

La projection spatiale tridimensionnelle des communes basées sur les trois premiers axes issues de l'ACP (figure 24), montre la nette séparation de trois populations qui forment les communes du nord et qui se caractérisent par la valeur élevée des indices calculés (Bousselam , et Beni Ourthilene). Le deuxième groupe caractérisé par des valeurs moyennes des indices de bioindication et biodiversité, et le troisième groupe représente les communes à faible valeurs

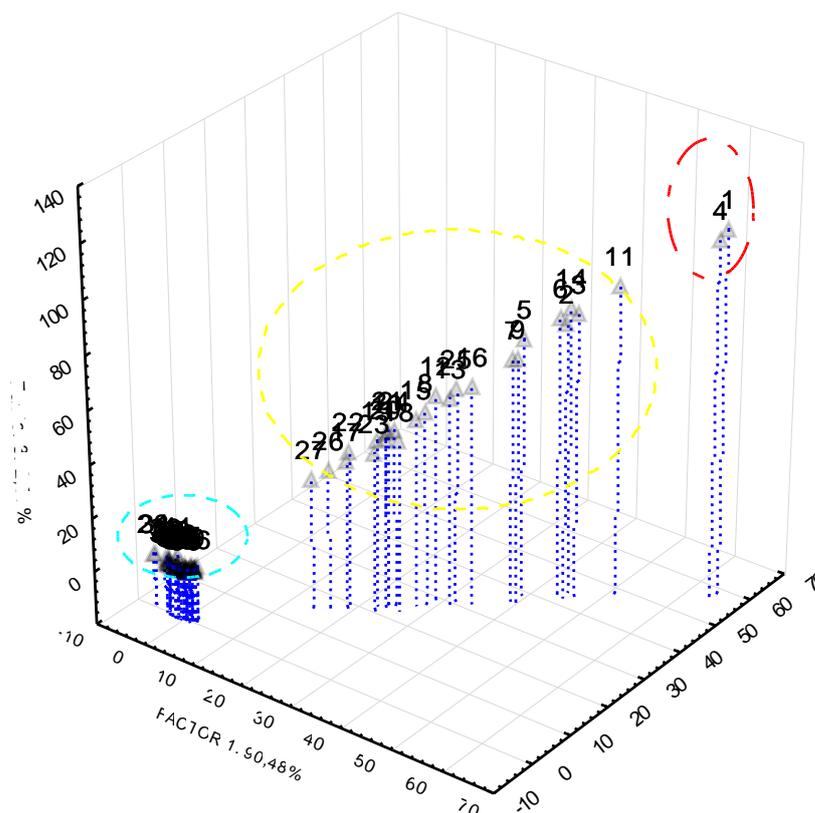


Figure 24 : Projection spatiale des stations, basée sur les trois premiers axes.

1.5.2.2. Analyse UPGMA

L'analyse des clusters UPGMA, basée sur la distance du linkage, confirme les résultats de la ACP et sépare les 60 stations en deux clades distincts (Figure 25).

La première clustration sépare les communes non polluées, avec une abondance importante de lichen (Oued Elbared, Ait Nauoual Mezada, Genzet, Beni Chebana, Beni Mouhli, Bousselam, Beni Ourthilane, Draa Kbila, Ait Tizi, Bouandas). Le deuxième clustre est divisé en deux branches. La première branche est représentée par le reste des communes de nord (Ain Lagredg, Harbil, Maouklen, Sardj Alghoul, Tala Ifecene, Babor, Ain Essabt, Beni Aziz) qui ont montré des valeurs moyennes des indices calculées. D'autre part, la deuxième branche, elle-même subdivisée en deux sous-branches, regroupe le reste des stations à faible valeur d'abondance de lichen, et une forte pollution atmosphérique comme Sétif et El Eulma.

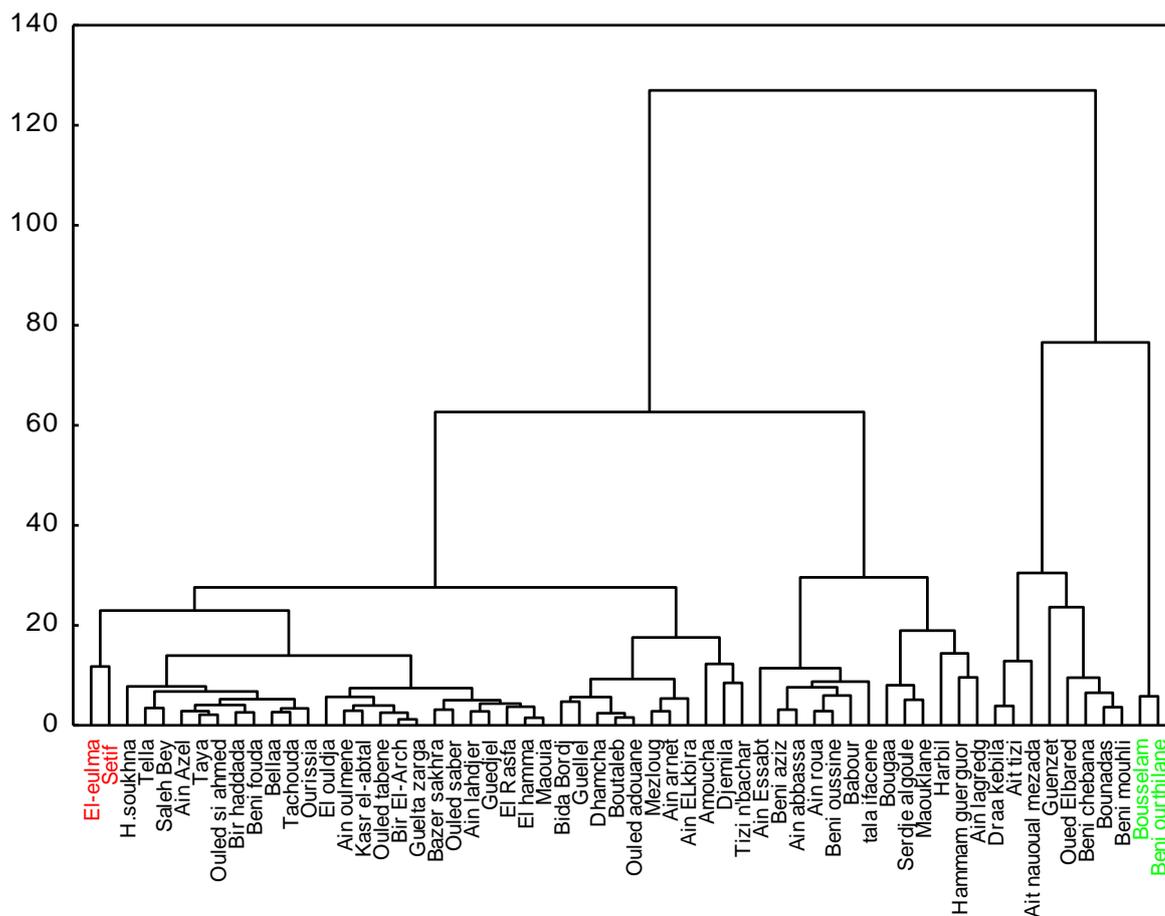


Figure 25 : Dendrogramme des communes basé sur les indices de bioindication et biodiversité.

1.6. Cartes de pollution

Les cartes de pollution ont été établies à l'aide des valeurs obtenues de l'IPA et d'IQA en se basant sur l'échelle d'évaluation de ces derniers. (Figure 26-27). L'examen de ces cartes, nous permet d'identifier 5 classes de pollution (représentées par 5 couleurs graduées).

Les communes du sud (Ain Lahjer, Taya, Tella, Ain Azel ; Guedjel, El Hamm, El Rasfa, El Ouldja, Bir El-Arch, Bazer Sakhra, et Ain Lahdjer) sont caractérisées par une pollution élevée. L'IPA dans ces communes varie entre 4,55 et 13,47, la valeur la plus basse a été enregistrée dans la station de (Sétif), C'est la commune la plus polluée de la wilaya, tandis que l'IQA varie entre 4,87 et 12.40

Les communes du centre de la zone d'étude, Amoucha, Ain Abssa, Ain Arnet, Mezloug, Dhamcha et Ain Lekbira sont caractérisées par une pollution élevée.

Les communes du nord de la wilaya de Sétif sont les moins polluées. La pollution est très faible dans les communes de Oued El-Bared, Ait Nauoual Mezzada, Bounadas, Beni Chebana, Beni Mouhli. Les valeurs les plus élevées de l'IPA et IAQ se trouvent dans la station de Beni ourthilan, qui représente la commune la moins polluée de la wilaya. Tandis qu'elle est faible à moyenne dans le reste des communes éloignées des sources d'émissions des unités industrielles et du trafic routier (Serdje algoul, Draa kebila, Aïn legradg, Maouklan, Hammam guergour et bougaa).



Figure 26 : Qualité de l'air dans la région de Sétif

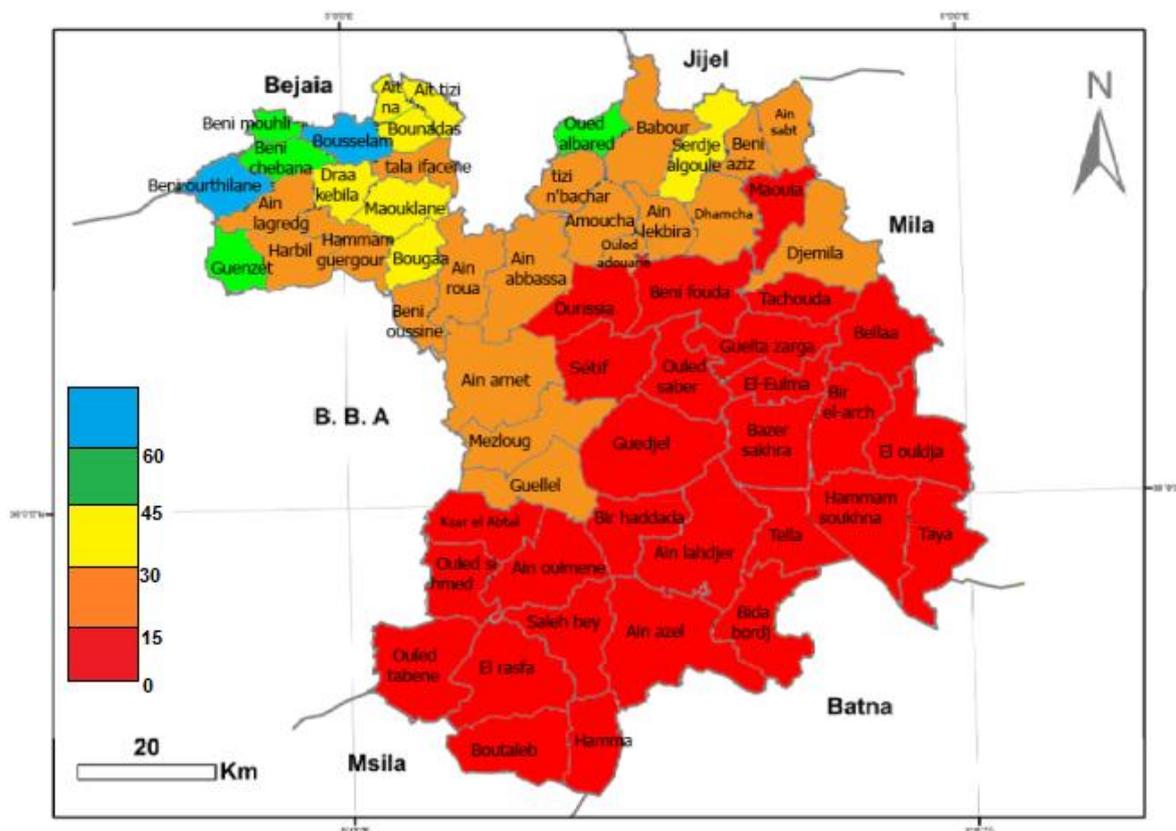


Figure 27: Pureté de l'air dans la région de Sétif

1.7. Discussions

La biodiversité lichénique dans les stations d'études de la wilaya de Sétif n'est pas homogène (nombres, fréquences, type physionomique), elle est influencée par plusieurs facteurs. Les espèces lichéniques ne se rencontrent pas de manière identique sur toutes les essences d'arbres. La texture d'écorce d'arbre s'est avéré être un facteur important influençant la diversité des lichens et la composition de leurs communautés (Cáceres *et al.*, 2007; Ellis, 2012). En effet, le pH des écorces joue un rôle important dans la richesse des peuplements lichéniques. Beaucoup d'espèces colonisent les écorces acides telles que *Lepraria incana*, D'autres espèces préfèrent les écorces à pH basique telles que *Physcia*, *Lecanora*, *lecidella* (Kirschbaum and Volkmar, 1997; Kricke, 2002). La différence d'humidité au niveau des différentes parties de l'écorce va influencer la distribution des espèces lichéniques (Semadi and Tahar, 1995).

L'analyse des relevés lichéniques nous révèle l'importance de la famille des *Teloschistaceae*, regroupant des espèces du genre *Caloplaca* et le genre *Xanthoria*.

Dans la région d'étude nous avons recensé 9 espèces foliacées, parmi lesquelles on trouve *Flavoparmelia caperata* qui figurent sur la liste des espèces protégées en Algérie (Décret exécutif, 2012). Les espèces *Collema furfuraceum*, *Parmelia revoluta*, *Caloplaca flavorubescens* et *Physcia stellaris*, se trouvant dans la région d'étude, sont signalées dans la liste rouge comme espèces en danger (Scheidegger and Clerc, 2002).

Xanthoria parietina, espèce nitrophile et poléotolérante (Bargagli and Barghigiani, 1991), à une distribution géographique très représentative dans la région de Sétif. Elle est connue comme une espèce se développant sur différents substrats, *Xanthoria parietina* est un lichen xérophyte qui peut se développer dans les régions arides et les des zones urbaines (Gombert *et al.*, 2004; Liop *et al.*, 2012).

Les types morphologiques foliacées et crustacées sont le plus observées dans la zone d'étude, dont la dominance des foliacées, avec 21 espèces. Ces espèces pénètrent plus à l'intérieur des villes et résistent mieux à l'influence urbaine (Agnan, 2013). Les types physionomiques dans la zone d'étude est similaire à celles observées dans la région d'Akfadou (Djellil, 1989), et la région d'Alger et dans le parc national de Gouraya (Rebbas *et al.*, 2011).

Les valeurs les plus élevées de la diversité lichénique sont observées dans les stations rurales, loin des sources de pollution, Beni Ourthilane, Bousselam, Serdj Elghoul, Ait Tizi et Maouklane. Les mêmes observations ont été rapportées par plusieurs auteurs (Van Herk, 2002; Gombert *et al.*, 2004; Pinho *et al.*, 2004; Larsen *et al.*, 2006). Cette diversité est influencée par les conditions de microclimat, notamment la température, l'intensité lumineuse et l'humidité (Geiser and Neitlich, 2007; Giordani, 2007; Giordani and Incerti, 2008)

Une diminution de la diversité spécifique a été constatée dans les zones urbaines de Setif et El-Eulma. Ces sites se caractérisent par des activités industrielles ainsi que la densité du trafic routier qui fait régresser la végétation épiphyte (Gombert *et al.*, 2004; Liop *et al.*, 2012; Attanayaka and Wijeyaratne 2013; Das *et al.*, 2013; Kar *et al.*, 2014.; Sett and Kundu, 2016). Ces résultats sont en conformité avec les conclusions de Giordani *et al.* (2002); Pinho *et al.* (2004); Frati and Brunialti (2006); Larsen *et al.* (2006); Svoboda (2007), qui ont constaté que dans les zones urbaines, les polluants atmosphériques sont toujours le principal facteur qui limite la diversité des lichens.

Cette distribution hétérogène de la végétation épiphyte dans la zone étudiée est probablement le résultat de la pollution atmosphérique et des facteurs écologiques qui jouent un rôle important dans la croissance, le développement et la répartition des espèces de lichens (Das *et al.*, 2013; Jayalal *et al.*, 2015; Khastini *et al.*, 2019). Une grande diversité de lichens a été

observée dans la partie montagneuse de la région. Ces stations rurales ont montré des valeurs moyennes de VDL. Nos résultats liés à l'évaluation de la naturalité sont cohérents avec des résultats d'autres auteurs (Loppi *et al.*, 2002; Giordani, 2007; Svoboda, 2007).

Les résultats de l'IPA issus de l'analyse des données sont similaires avec ceux obtenus par Rahali (2003) qui établit une relation entre le taux d'urbanisation de la région d'Alger avec le taux de la pollution atmosphérique en se basant sur la densité des véhicules et l'intensité du trafic routier et la distribution des lichens. Ils sont en accord aussi avec les travaux de Semadi and Tahar (1995) sur la région d'Annaba, avec ceux de Maatoug *et al.* (2010) sur la région de Tiaret et ceux de Dron *et al.* (2016); Agnan *et al.* (2017) en France, ainsi que Giordani (2006) en Italie.

Les tests statistiques ont montré une corrélation significative entre les valeurs des indices VDL et celles de l'IPA ; ils augmentent avec la diversité des espèces et l'abondance des lichens. Cette forte corrélation pourrait être due à l'utilisation unique des fréquences dans la méthode de calcul de VDL et à l'indice écologique de chaque espèce (Q) incluse dans la formule de l'IPA (Loppi *et al.*, 2004; Agnan *et al.*, 2017).

Les stations où les moyennes de l'IPA et de VDL, sont les plus basses, montrent une altération de la qualité de l'air (Asta *et al.*, 2002; Loppi *et al.*, 2002), qui pourrait être attribuée à l'urbanisation, notamment aux activités industrielles (cimenteries, carrières et papeteries) et la densité du trafic routier, se sont des sources importantes affectant les lichens épiphytes (Munzi *et al.*, 2014; Käffer *et al.*, 2016; Pinho *et al.*, 2016; Becker *et al.*, 2017; Port *et al.*, 2018; Matos *et al.*, 2019). Les zones rurales peu perturbées présentaient des valeurs d'IPA élevées et des valeurs de VDL modérées, ce qui indique une meilleure qualité de l'air (Asta *et al.*, 2002; Attanayaka and Wijeyaratne 2013; Jayalal *et al.*, 2015).

2. Résultats de bioaccumulation

2.1. Teneurs en éléments traces métalliques ETM

Les concentrations d'éléments traces métalliques accumulés dans les thalles du lichen *Xanthoria parietina* ont été déterminées par Spectrophotométrie d'Absorption Atomique avec Flamme (SAA) (Tableau 10). Les teneurs en éléments (Co, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb et Zn) montrent une forte variation entre les différents sites de la région d'étude.

L'élément Pb présente la concentration moyenne la plus élevée dans les échantillons de *Xanthoria parietina* avec une moyenne de $826,12 \pm 247,82$ mg / kg, tandis que le cuivre est le moins abondant dans les thalles ($3,94 \pm 4,17$ mg / kg). Les concentrations des éléments Cr et

Pb sont les plus homogènes entre les stations avec des CV de (22.16 % et 30%) respectivement. Tandis que le Cu présente une distribution nettement plus étalée avec un CV de 105.80%.

Tableau 10 : Concentrations des ETM dans les thalles de *Xanthoria parietina* (mg/Kg)

	<i>Daïra</i>	<i>Co</i>	<i>Cr</i>	<i>Cu</i>	<i>Fe</i>	<i>Ni</i>	<i>Pb</i>	<i>Zn</i>
1	Ain Arnat	141,12±0,71	73,74±57,55	5,75±6,91	641,04±313,69	55,29±7,46	738,99±364,29	99,82±24,51
2	Ain Azel	75,70±0,44	71,98±23,70	1,56±0,72	660,62±33,47	45,74±21,89	681,92±607,24	101,18±51,78
3	Ain El Kebira	103,04±0,85	125,48±38,31	2,70±0,38	310,01±134,49	35,44±29,57	1001,69±208,52	79,30±14,93
4	Aïn Oulmene	123,37±069	108,58±13,27	2,44±0,46	249,73±120,73	31,73±23,21	1124,86±210,93	92,51±68,57
5	Amoucha	37,80±0,10	88,00±18,60	1,72±0,56	148,23±34,90	21,98±5,25	1364,41±35,28	90,72±50,98
6	Babor	23,73±0,05	108,24±11,94	13,34±16,21	151,33±42,60	22,13±9,15	1142,66±87,49	193,32±12,98
7	Beni Aziz	109,43±0,63	107,71±40,13	2,38±0,77	566,51±270,30	45,60±12,71	683,62±279,67	56,81±17,28
8	Beni Quartilene	40,31±0,13	52,67±14,63	1,52±0,13	941,70±254,85	27,87±11,36	324,01±99,78	99,19±11,97
9	Bir El Arch	146,50±0,87	100,58±21,12	2,16±0,50	608,00±215,90	50,79±23,25	768,08±245,88	75,84±26,46
10	Bouandas	75,25±0,83	108,06±33,10	11,63±16,60	686,86±514,44	32,01±14,19	658,19±446,94	130,69±59,13
11	Bougaa	103,14±1,08	90,81±58,33	14,93±20,41	433,23±287,55	40,86±30,37	937,85±312,80	109,17±65,75
12	Djemila	151,98±0,17	125,13±8,22	2,34±0,59	507,98±299,42	55,53±22,29	766,39±178,58	89,04±7,23
13	El-Eulma	155,52±0,26	90,10±22,41	1,96±0,55	687,76±250,29	67,79±7,94	653,11±232,35	55,57±24,75
14	Guedjel	79,72±0,95	63,62±48,90	2,67±1,46	621,64±446,75	25,55±14,57	840,12±421,87	64,67±17,49
15	Guenzet	120,41±1,00	98,47±22,03	1,86±1,10	404,27±426,08	51,10±31,47	990,96±469,80	64,77±24,11
16	H.Guergour	46,09±0,12	114,83±12,32	2,20±0,04	116,04±62,37	27,51±28,12	899,59±505,54	65,92±12,80
17	H. Soukhna	145,89±0,21	93,45±9,70	1,93±0,09	394,43±77,00	42,96±13,85	851,98±139,02	59,75±10,39
18	Maoklane	127,94±0,90	73,65±13,07	2,08±1,41	769,19±90,00	50,28±32,63	598,59±85,09	112,10±42,84
19	Salah Bey	41,38±0,22	81,31±1,49	1,23±0,01	665,98±480,55	28,85±12,24	446,89±254,08	58,87±2,52
20	Sétif	131,89±1,39	126,45±23,52	2,42±0,09	428,80±99,13	52,54±42,54	1048,59±71,91	94,05±43,42
	<i>Valeurs Certifiées</i>	0,32	4,12	7,03	804	2,47	40,9	100,6
	Moyenne	99,01	95,14	3,94	499,67	40,58	826,12	89,66
	Écart type	43,41	21,09	4,17	225,16	13,08	247,82	32,33
	CV	43,84	22,16	105,80	45,06	32,23	30,00	36,06
	Max	155,52	126,45	14,93	941,70	67,79	1364,41	193,32
	Min	23,73	52,67	1,23	116,04	21,98	324,01	55,57

2.2. Les indices de bioaccumulation

2.2.1. Indice de charge de pollution (ICP)

Le calcul de facteur de contamination pour chaque élément permet de calculer l'indice de charge de pollution (ICP) de chaque station (Tableau 11)

Un ICP inférieur à 1 indique que les charges élémentaires sont faibles et un ICP supérieur à 1 indique l'étendue de la pollution.

Tableau 11 : Facteur de contamination (FC) et indice de charge de pollution (ICP) des stations.

	station	Facteur de contamination							ICP
		Cr	Cu	Ni	Zn	Fe	Pb	Co	
1	Ain Arnat	1,53	9,58	1,13	1,36	2,30	1,54	1,57	2,00
2	Ain Azel	1,44	1,95	2,18	1,53	3,01	2,86	2,15	2,09
3	Aïn El Kebira	1,49	1,17	7,82	1,17	1,99	1,23	3,76	2,04
4	Aïn Oulmene	1,16	1,27	5,13	2,54	2,09	1,15	1,76	1,87
5	Amoucha	1,24	1,38	1,19	1,52	1,28	1,03	1,31	1,25
6	Babor	1,08	7,10	1,01	1,05	1,25	1,06	1,18	1,44
7	Beni Aziz	1,59	1,45	1,43	1,54	1,50	1,70	1,65	1,55
8	Beni Ouartilene	1,42	1,11	2,50	1,18	1,26	1,81	1,79	1,53
9	Bir El Arch	1,23	1,52	3,01	1,94	2,12	1,30	7,89	2,18
10	Bouandas	1,15	1,03	2,34	1,48	1,22	1,05	3,91	1,54
11	Bougaa	1,40	1,44	1,13	1,43	1,72	1,35	1,17	1,37
12	Djemila	1,05	1,22	1,40	1,06	1,71	1,20	1,08	1,23
13	El-Eulma	3,07	5,01	5,22	1,69	1,93	1,60	7,89	3,18
14	Guidjel	2,19	1,63	1,68	1,24	2,03	1,55	6,24	2,04
15	Guenzet	1,19	1,72	1,77	1,36	3,93	1,50	2,44	1,84
16	Hammam Geurgour	0,84	1,19	1,56	1,09	2,27	1,34	2,08	1,35
17	Hammam Soukhna	0,85	1,20	1,56	1,10	2,28	1,12	2,08	1,37
18	Maouklen	0,71	0,21	1,01	1,19	1,03	0,04	1,85	1,02
19	Salah Bey	0,81	0,98	1,38	1,03	1,33	0,93	1,92	1,15
20	Sétif	1,38	13,62	1,92	1,66	2,00	5,49	7,04	3,34

L'examen du graphe des ICP (Figure 28), montrent une forte variation entre les différentes stations de la région d'étude. Tous les sites ont enregistré des valeurs d'ICP supérieures à 1. En termes d'impact des différentes sources élémentaires, des niveaux élevés ont été observés dans les zones urbaines proches du trafic routier (Sétif, El-Eulma). Ainsi, des niveaux moyens

ont été trouvés dans les stations de (Ain Arnat, Aïn El Kebira, Ain Azel, Bir El Arch, Guidjel). Le fait que les ICP étaient aussi élevées dans les points d'échantillonnage ruraux que dans les points d'échantillonnage urbains indique que la pollution élémentaire était non seulement liée à la proximité des sources, mais également au transport et à l'accumulation.

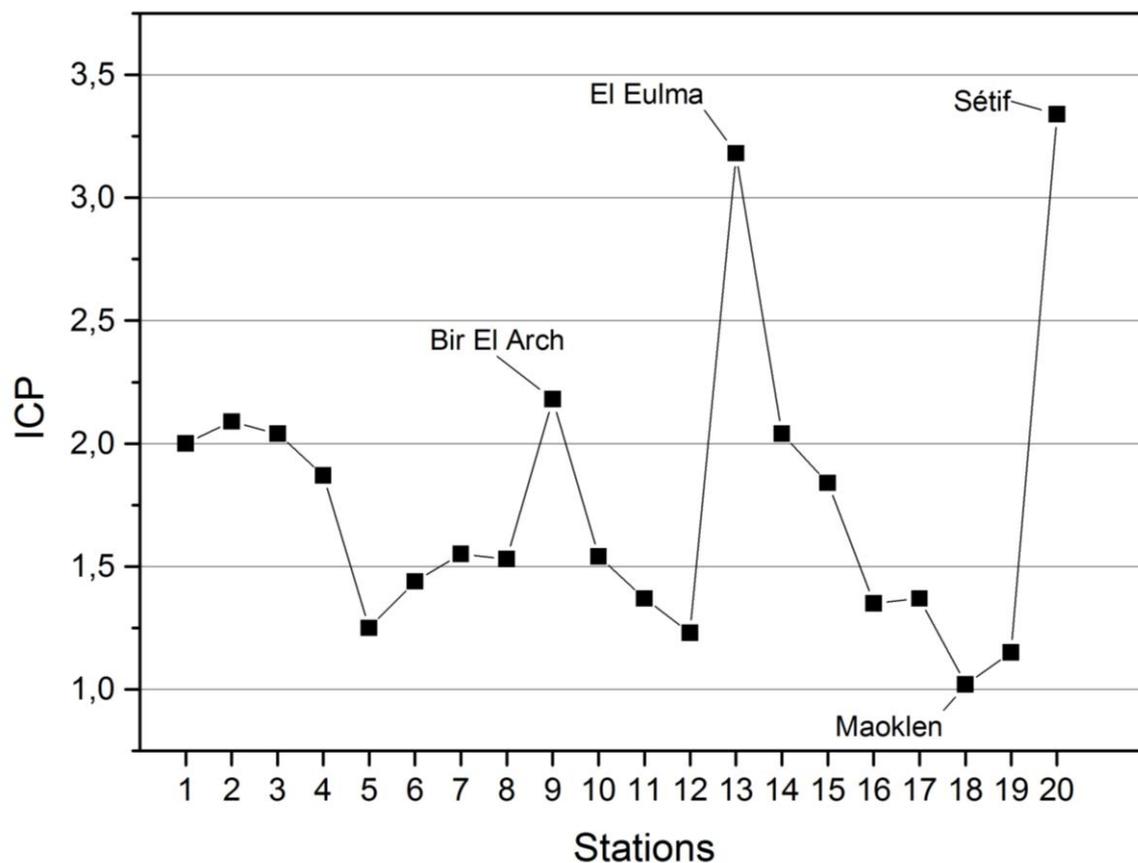


Figure 28 : ICP des stations d'étude.

Pour chercher les relations qui existent entre l'accumulation des métaux lourds dans les thalles des lichens et les stations d'études nous avons fait appel à des techniques statistiques multivariées.

2.3. Analyse en Composantes Principales (ACP)

Les concentrations de métaux analysés dans les 20 sites échantillonnés sont très variables et se répartissent dans l'ordre d'abondance suivant : Pb > Fe > CO > Cr > Zn > Ni > Cu. Ainsi les analyses de ces métaux montrent une grande variabilité. Le Pb présente la variation la plus élevée ($826,12 \pm 247,82$ mg/kg), avec le Fe ($499,67 \pm 225,16$ mg/kg) suivie de Co ($99,01 \pm 43,41$ mg/kg), par contre le Cu et Ni présentent des variabilités faibles (Figure 29).

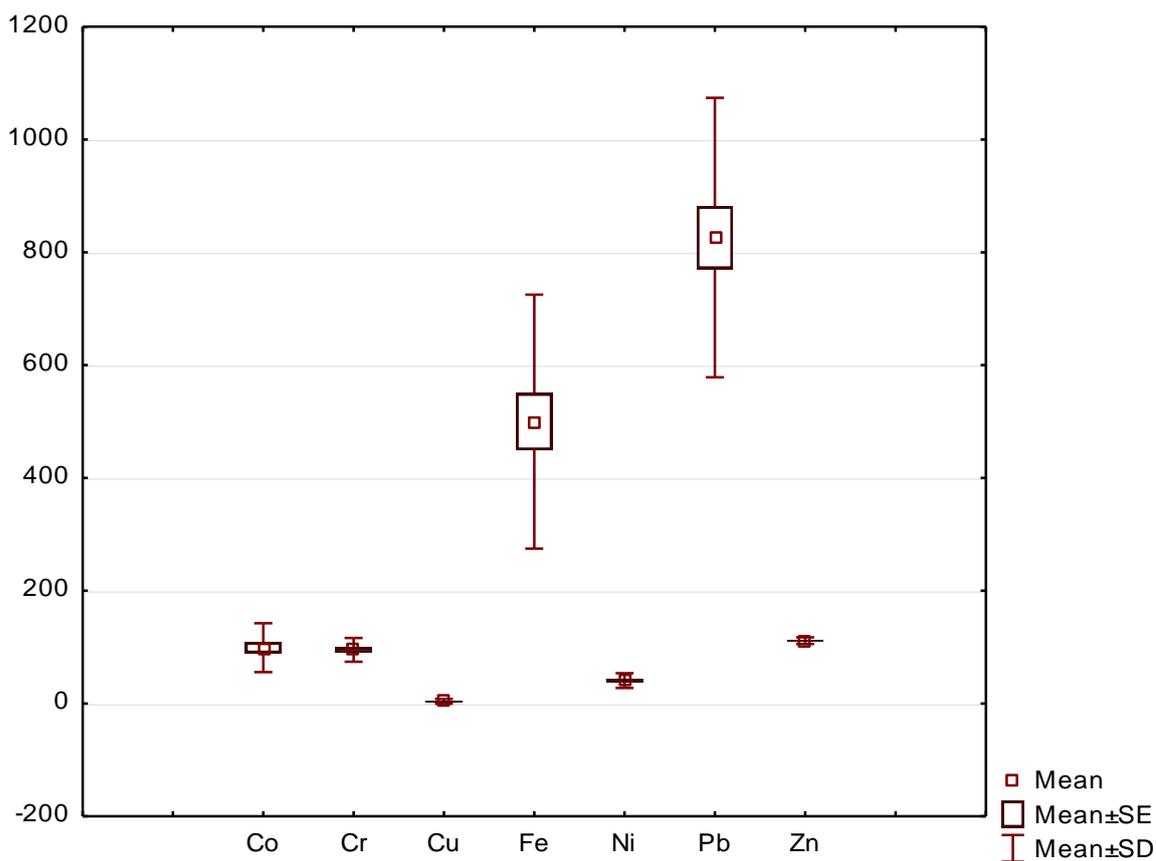


Figure 29 : Variabilité de la concentration des ETM dans le thalle de *Xanthoria parietina*

2.3.1. Etude des variables

2.3.1.1. Matrice de corrélation

L'examen de la matrice fait apparaître des coefficients de corrélation très faibles avec un pourcentage de 9,59 % (Tableau 12).

Tableau 12 : Matrice de corrélation des variables

<i>Corrélations</i>							
<i>Variable</i>	Co	Cr	Cu	Fe	Ni	Pb	Zn
Co	1						
Cr	0,24	1					
Cu	-0,22	0,13	1				
Fe	0,19	-0,61	-0,17	1			

Suite tableau 12

Ni	0,86	0,12	-0,22	0,36	1		
Pb	-0,04	0,49	0,19	-0,88	-0,24	1	
Zn	0,13	0,07	-0,19	0,10	0,15	-0,20	1

*Valeurs de signification : $S \geq 0,75$. $HS > 0,87$

Les valeurs propres représentant la variance des mesures des métaux lourds sur les axes sont élevées, 37.40 % pour le premier axe, 27.48 % pour l'axe 2 et 14.66 % pour l'axe trois, donnant ainsi une bonne contribution à la variance totale. L'ensemble de l'information expliquée par les trois premiers axes issus de l'ACP est de 79.54%.

2.3.1.2. Cercle des corrélations

La représentation du plan formé par les deux premiers axes principaux plan (1 x2) (figure30) montre que les éléments contribuent fortement à la formation de l'axe 1. La partie positive est expliquée par la variable (Co, Ni, Zn, Fe), par contre sa partie négative est expliquée par les variables (Cu, Cr et Pb).

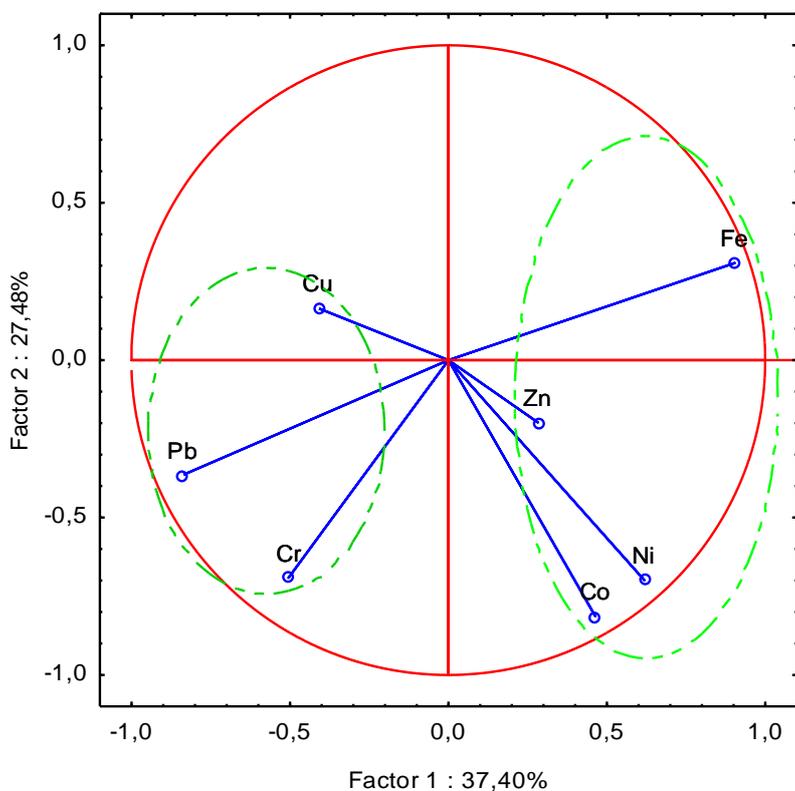


Figure 30 : Cercle des corrélations, projection des variables sur le plan (1x2)

La représentation du plan formé par les axes principaux plan (1x3) (figure 31) montre que les éléments contribuent à la formation de la partie négative de l'axe 3 est expliquée par les variable (Zn et Cr).

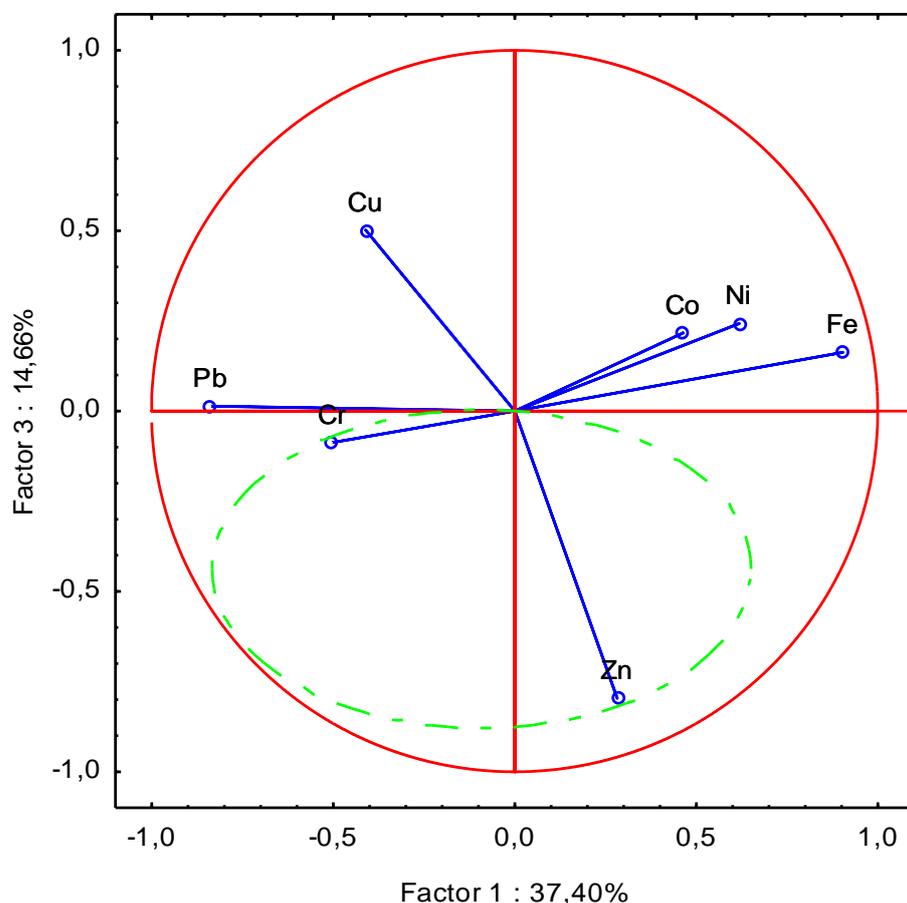


Figure 31 : Cercle des corrélations, projection des variables sur le plan (1x3)

2.3.2. Etude des individus

La représentation du plan 1x2 des variables (figure 32) montre que nos populations (daïra) se sont scindées en plusieurs groupes bien distincts. Le premier groupe, localisé sur la partie positive de l'axe 1, est formé par les daïra de Beni Ouartilene, Salah bey Guedjel, et Ain Azel qui sont caractérisées par un taux élevé de (Fe). Sur la partie négative de l'axe 1 on retrouve les daïra de Babor, Amoucha, Hammam Guergour, Bougaa, Ain Lekbira, Ain Oulmane et avec des taux élevé de (Cr et Co).

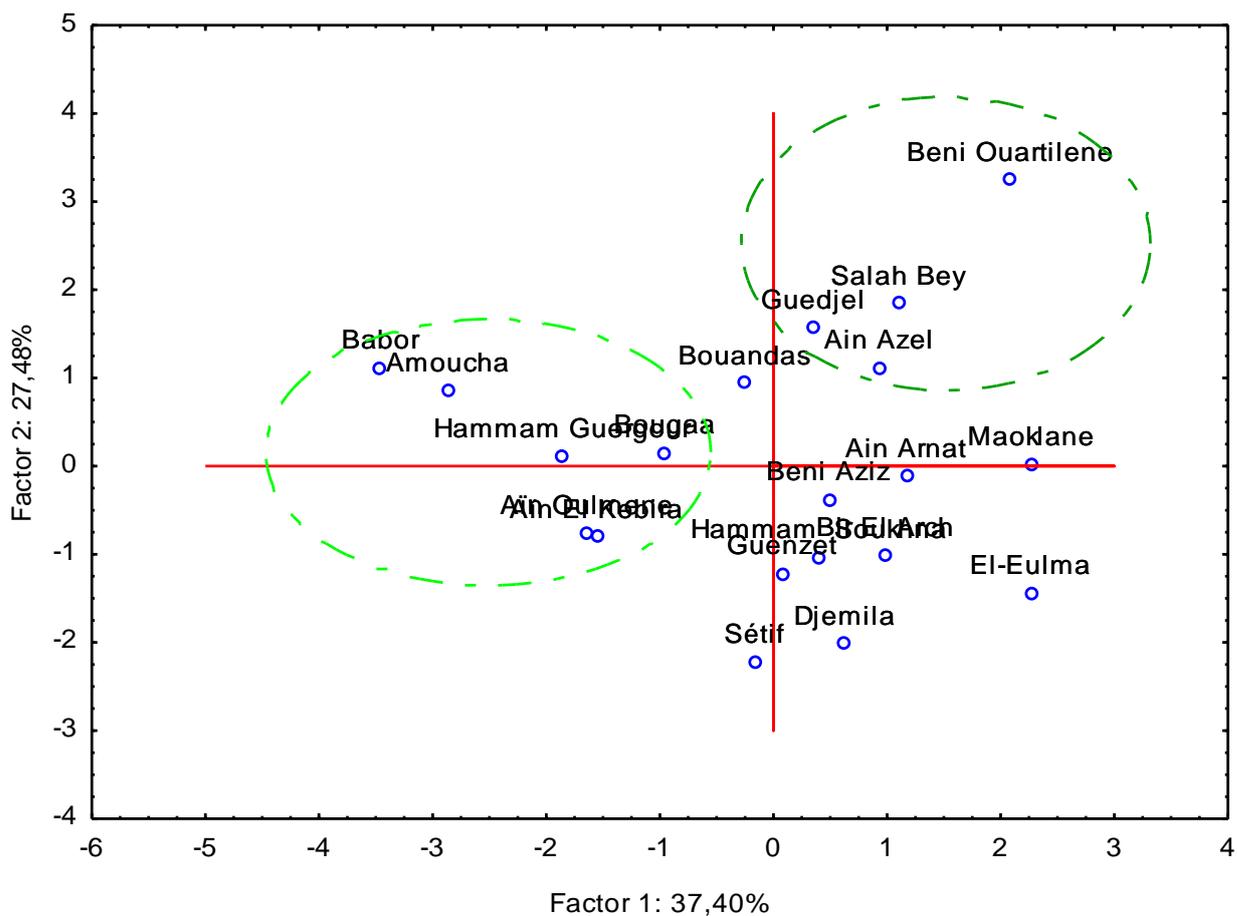


Figure32 : Projection des daïra, sur le plan 1-2

La représentation du plan 1x3 des variables (Figure33), montre que l'axe 3 dans sa partie positive est caractérisé par les daïra de AinAzal, Bouandas , BougaaAin Arnet , alors que la partie négative de l'axe regroupe les communes de Guenzet, Guedjel, Hammam Soukhna, Sétif, Salah Bey.

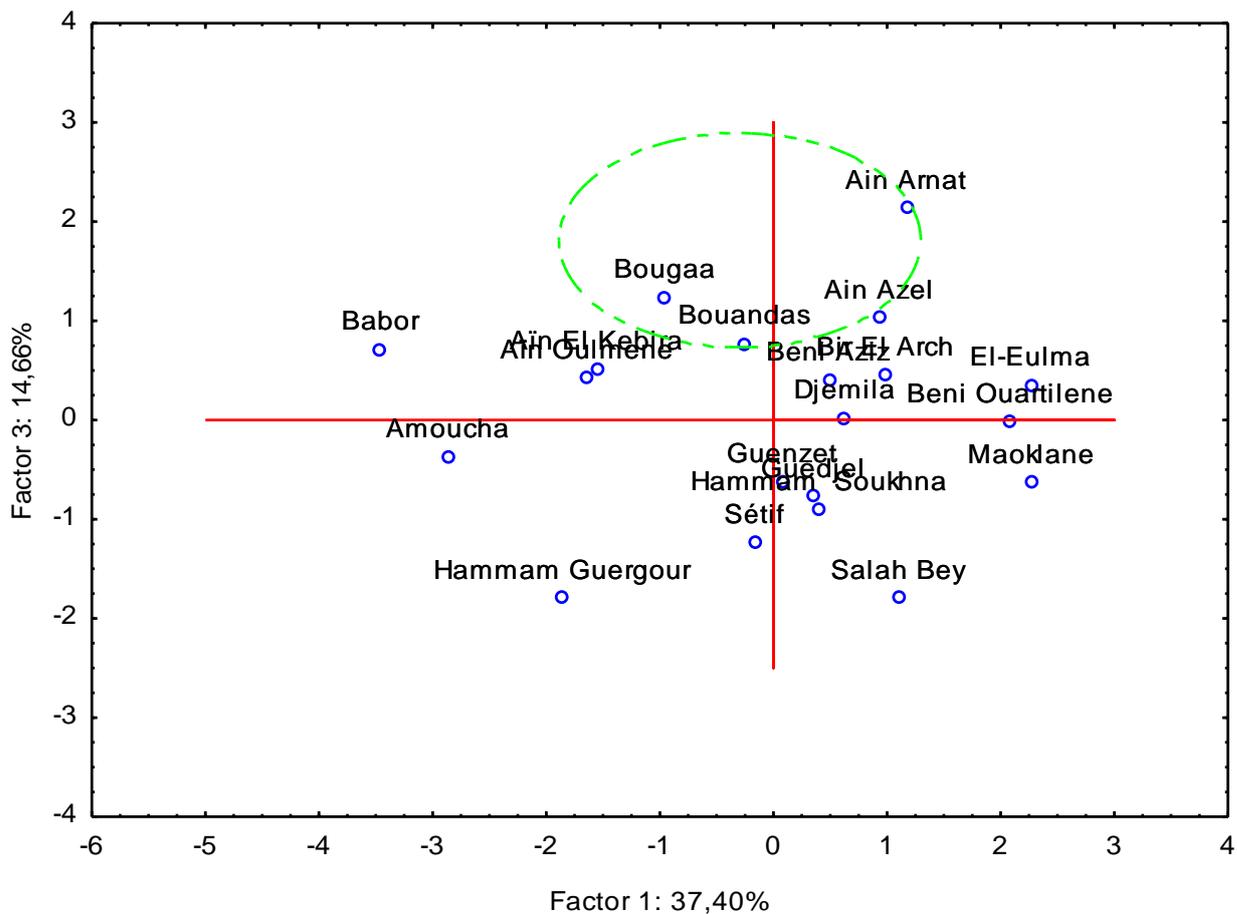


Figure 33 : Projection des daïra, sur le plan 1-3

2.3.2.1. Projection spatiale tridimensionnelle

La projection spatiale tridimensionnelle des stations, basée sur les trois premiers axes issus de l'Analyse de Composant Principal (ACP), montre la séparation de quelques populations (Babor, Ain Arnat, Amoucha) (Figure 34). Le reste des populations restent regroupées en formant un nuage.

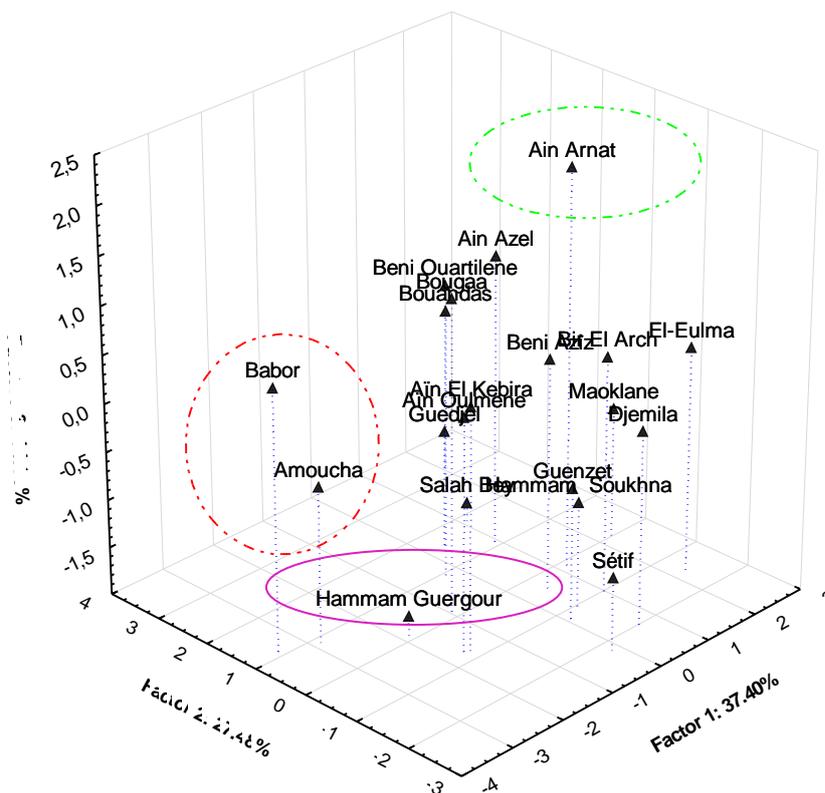


Figure 34 : Projection spatiale des daïra, basée sur les trois premiers axes

Les concentrations d’ETM trouvées dans les thalles lichénique dans les stations de Babor, Ain Arnat, Amoucha sont élevées et similaires, dépassant les valeurs standard notamment le Fe. D’autre part, à la station Hammam Gurgour, les thalles accumulent des concentrations faibles en Cu, Fe et Zn et sont inférieures à la valeur standard.

Analyse UPGMA

L'analyse UPGMA sépare les ETM en deux groupes (Figure 35). Le premier groupe inclus deux éléments (Fe et Pb) qui sont représentés par des taux élevés. Le deuxième groupe est divisé en deux sous-groupes 2a (Cr, Zn, Co) et 2b (Cu, Ni), représentés par des taux d'ETM moins élevés dans les thalles.

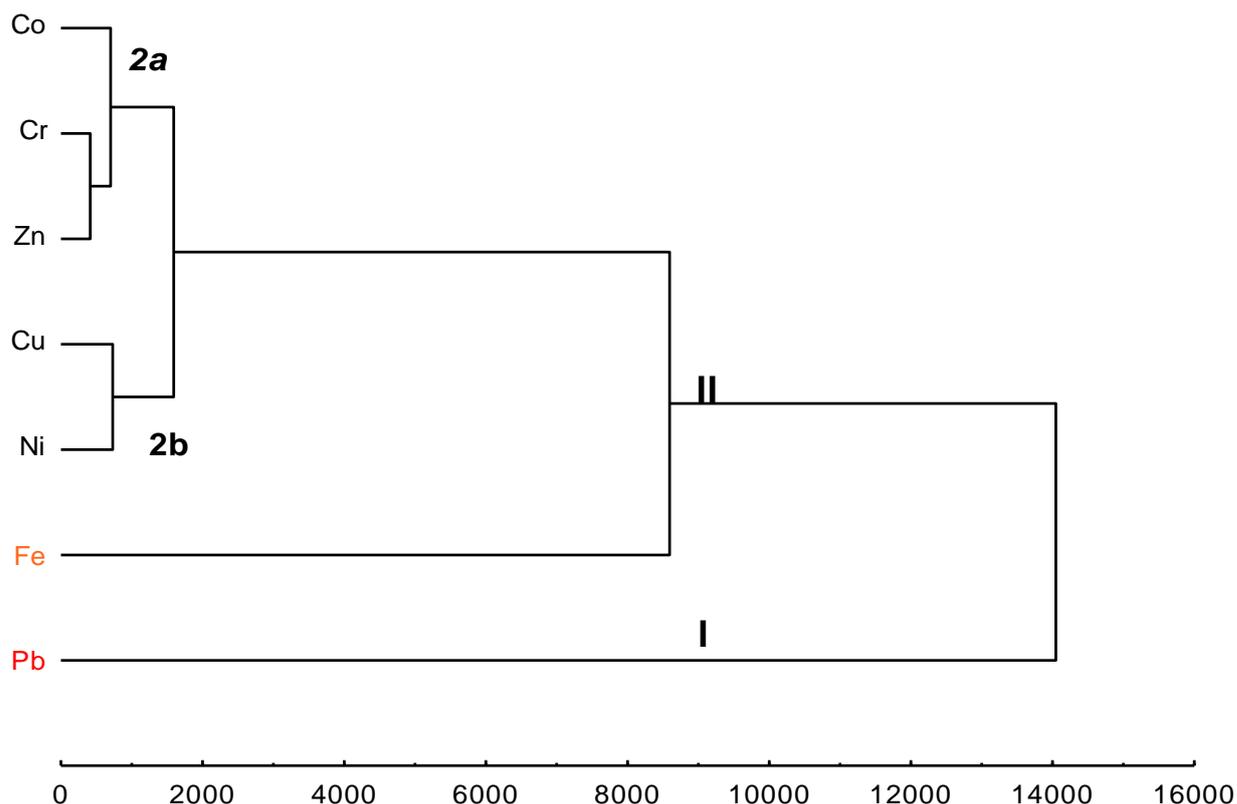


Figure 35 : Dendrogramme des ETM dans les thalles de *X. Parietina*

L'UPGMA confirme la séparation des daïra en plusieurs groupes et la désagrégation des sites étudiés (figure 36). Cette séparation, basée sur la distance du linkage, traduit une hétérogénéité dans l'accumulation métallique dans les thalles de *Xanthoria Parietina*. Le premier groupe est représenté par les daïra de Beni Ouartilane, Salah Bey, Moaklane, El-Eulma, Bouandas et d'Ain Azel avec une accumulation élevée d'ETM dans les thalles, tandis que le second groupe se divise en deux branches ; Babor, Amoucha, Hammam guergour, Ain Oulmene et Ain El Kebira, stations avec une très forte accumulation de Pb, dépassant les valeurs standards (1364,41 mg / kg).

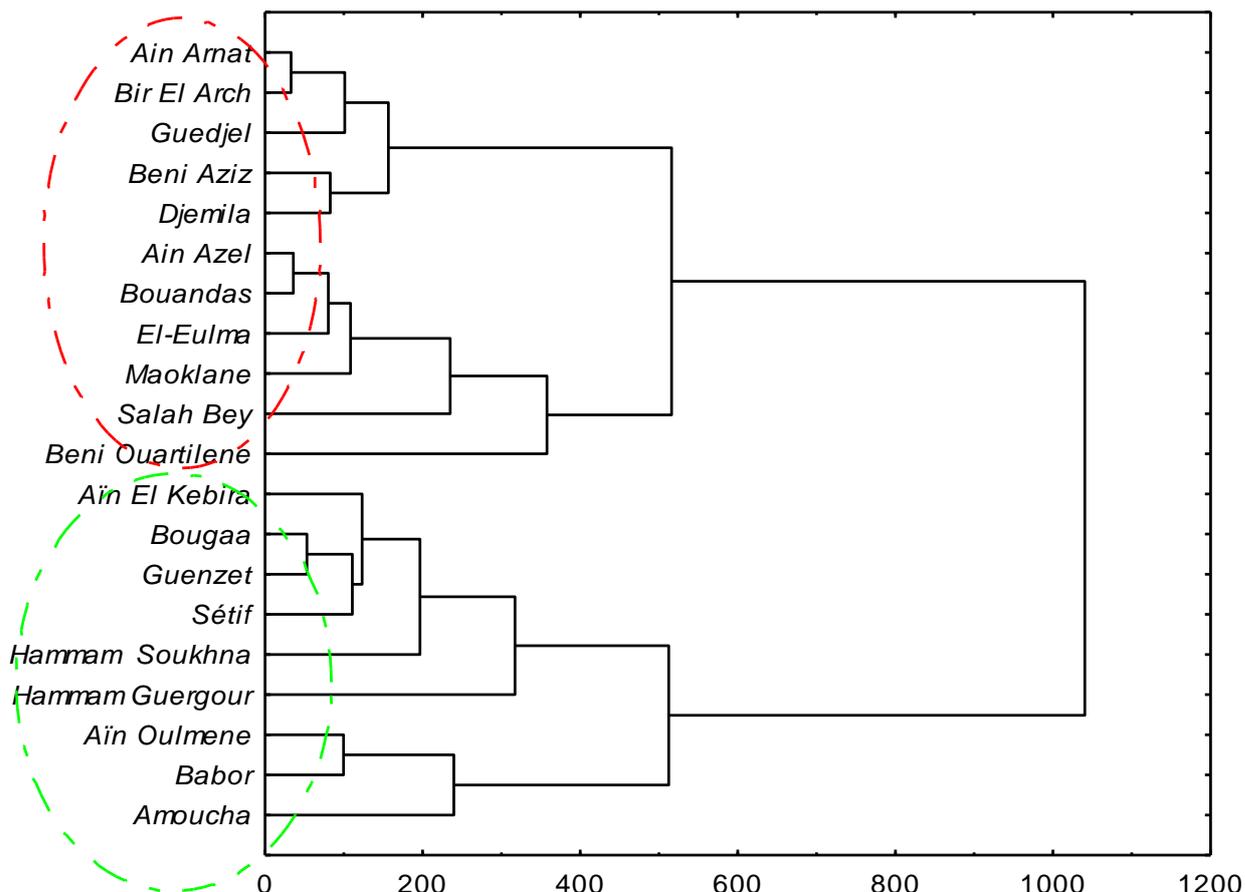


Figure 36 : Dendrogramme des daïra, basée sur la concentration des métaux lourds

2.4. Cartographie

Les résultats obtenus ont été utilisés pour l'élaboration d'une série de cartes de pollution pour chaque élément métallique. Cette approche permet de mieux appréhender la répartition des différents niveaux de pollution par ces métaux sur le plan spatial.

2.4.1. Chrome (Cr)

De fortes concentrations de chrome ont été observées dans le centre et le nord de la wilaya de Sétif, plus précisément dans les agglomérations de Sétif et d'Ain El Kabira, la valeur maximale est de 126,45 mg/Kg, ceci peut être dû aux activités dans les zones industrielles de Sétif et la cimenterie d'Ain El Kabira (Figure 37).

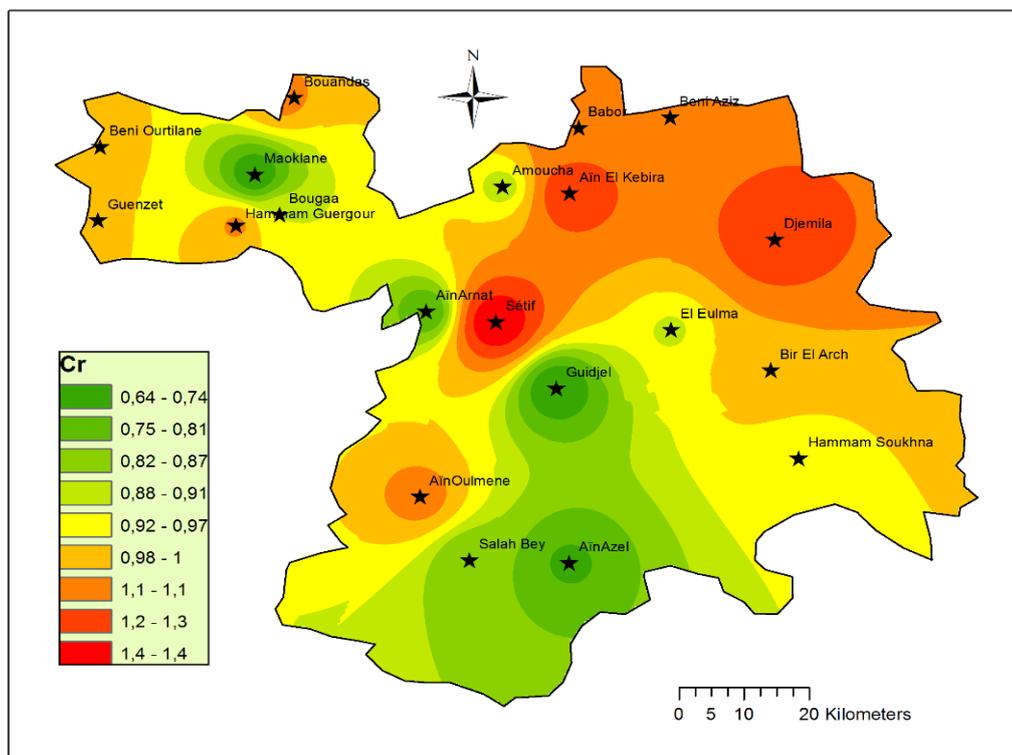


Figure 37 : Carte de distribution de Chrome

2.4.2. Nickel (Ni)

La concentration de Ni se trouve au centre de la wilaya de Sétif. En raison de la route nationale 5 et l'autoroute Est-Ouest qui traverse les villes de Sétif et El-Eulma, les concentrations les plus élevées ont été trouvées dans ces deux villes, avec des valeurs de 52,54 mg/Kg et de 67,79 mg/Kg, respectivement (Figure 38).

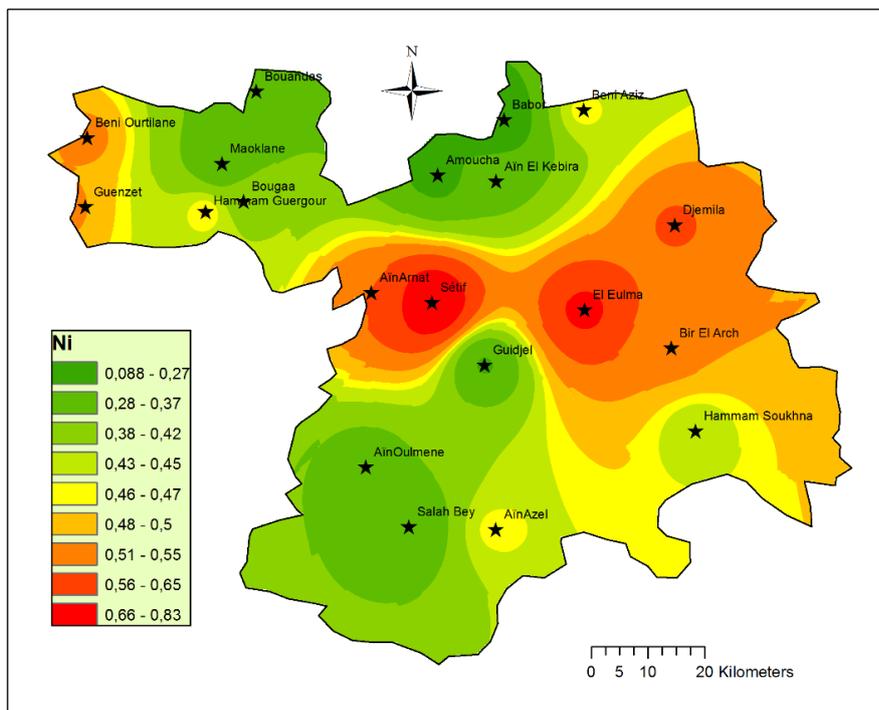


Figure 38 : Carte de distribution de Nickel

2.4.3. Fer (Fe)

les station les plus polluées par le Fe sont (Moaklane 769.19mg/Kg , El Eulma 687.76mg/Kg, Salah Bey 665.98mg/Kg, Ain Azel 660.62mg/Kg) (Figure 39).

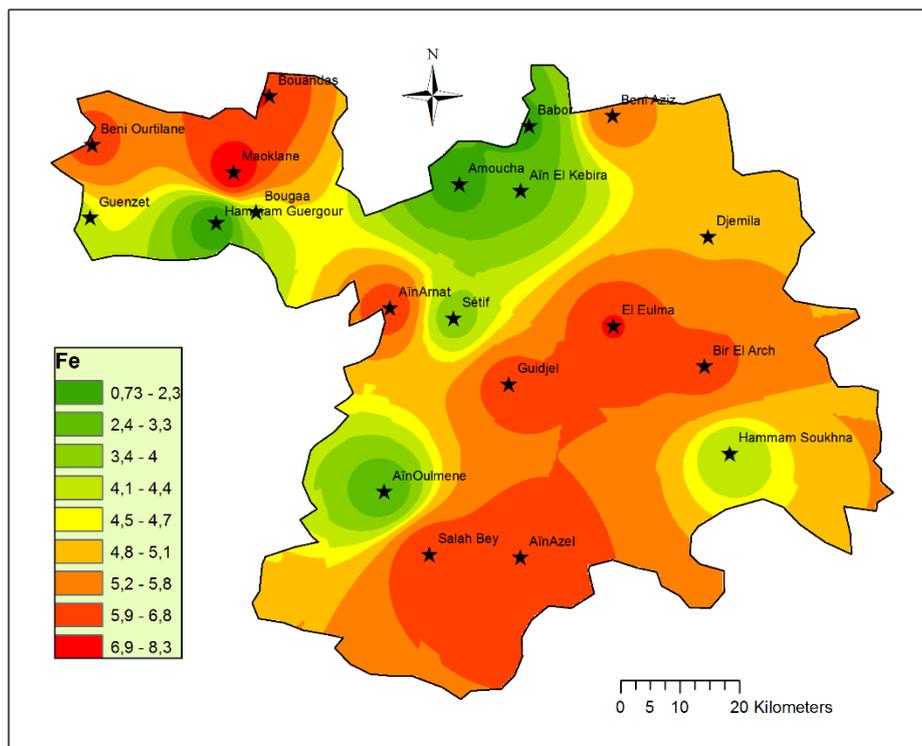


Figure 39 : Carte de distribution de Fer

2.4.4. Cuivre (Cu) et Zinc (Zn)

La contamination par le cuivre est très similaire au motif de distribution de zinc en raison des mêmes concentrations et sources d'émission. Les concentrations les plus élevées ont été observées au nord de la wilaya, la valeur la plus abondante de Cu a été mesurée à Bougaa (14.93mg/kg); tandis que pour Zn a été mesurées à Babor 193.32 mg/Kg (Figure 40).

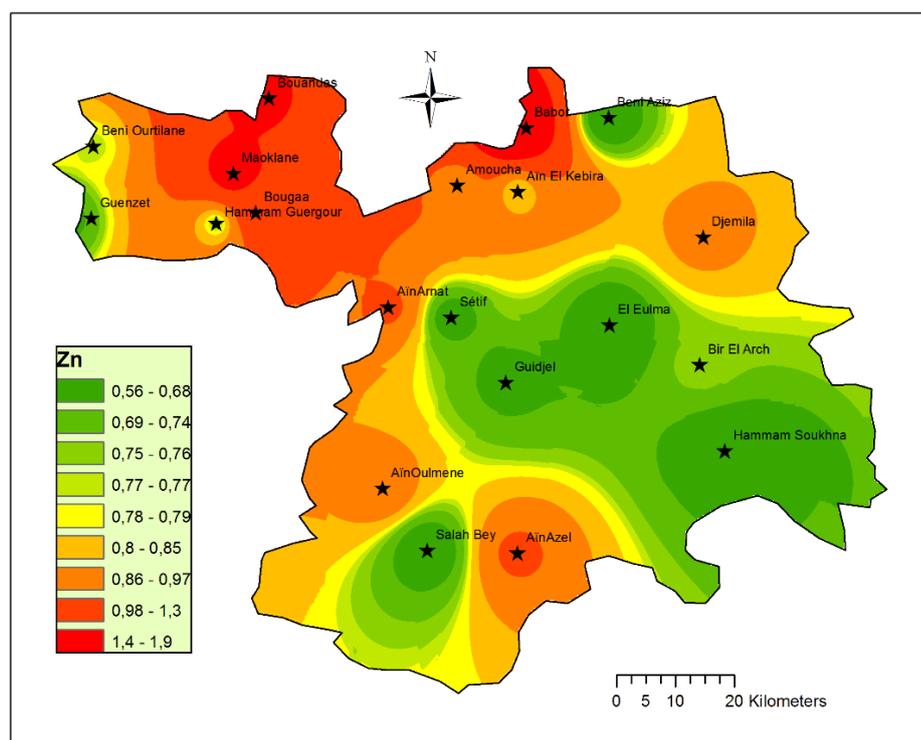
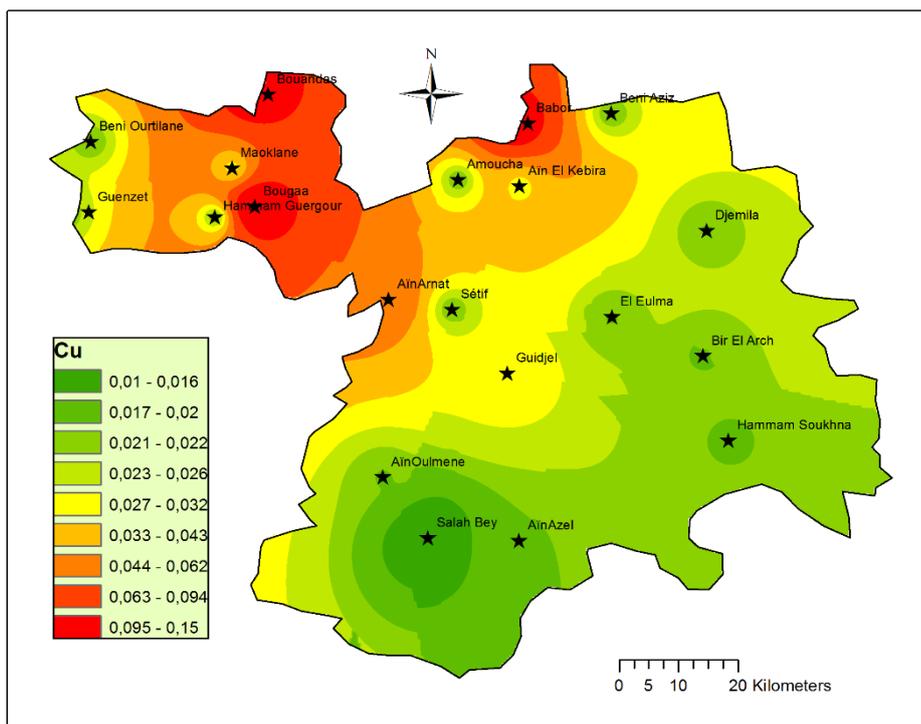


Figure 40 : Carte de distribution de (a) Cuivre, (b) Zinc

2.4.5. Cobalt (Co)

La concentration la plus élevée de Co a été trouvée dans la ville de Sétif avec une valeur de 131.89 mg/Kg. Les stations à forte concentration de cobalt comme El Eulma et Djemila sont situées à proximité d'un trafic routier intense. La source la plus importante de cet élément est l'échappement des véhicules (Figure 41)

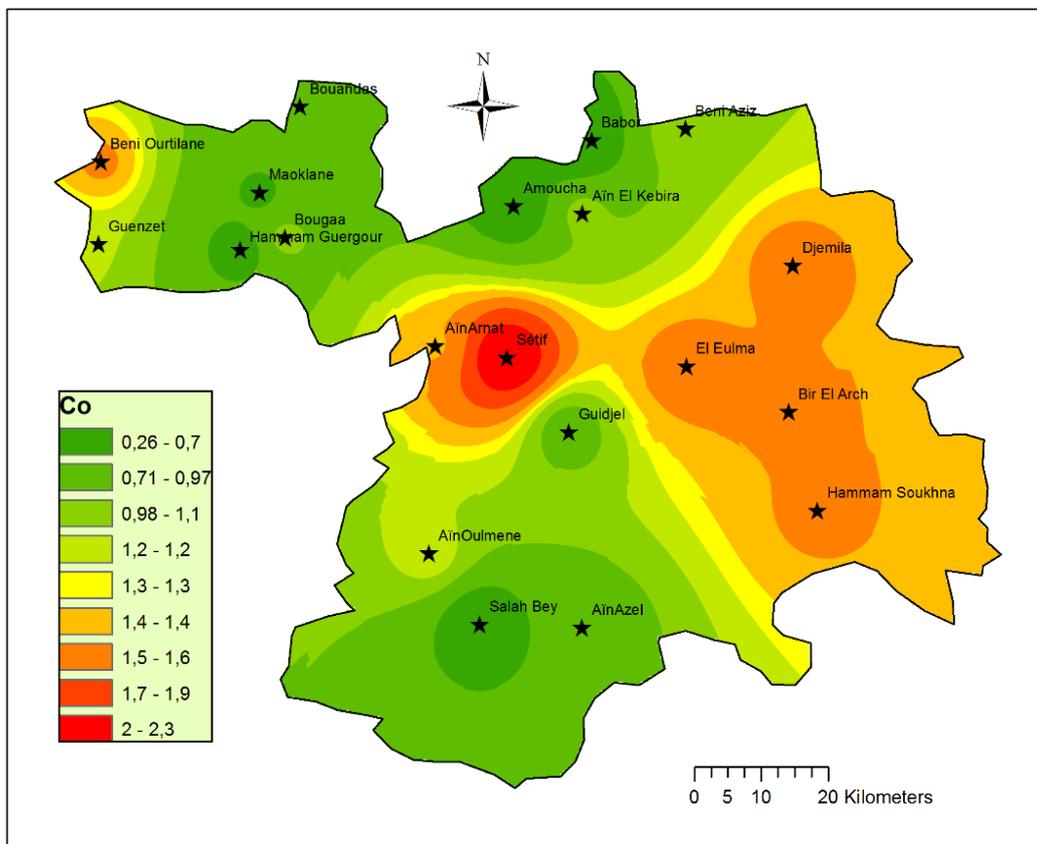


Figure 41 : Carte de distribution de Cobalt

2.4.6. Plomb (Pb)

Des concentrations plus élevées ont été observées à proximité de la route reliant la ville de Sétif et la ville de Bejaia. La valeur maximale a été mesurée à Amoucha 1364.41mg/Kg. Cette route est connue par une circulation de véhicule intense ce qui peut expliquer l'augmentation des valeurs de cet élément (Figure 42).

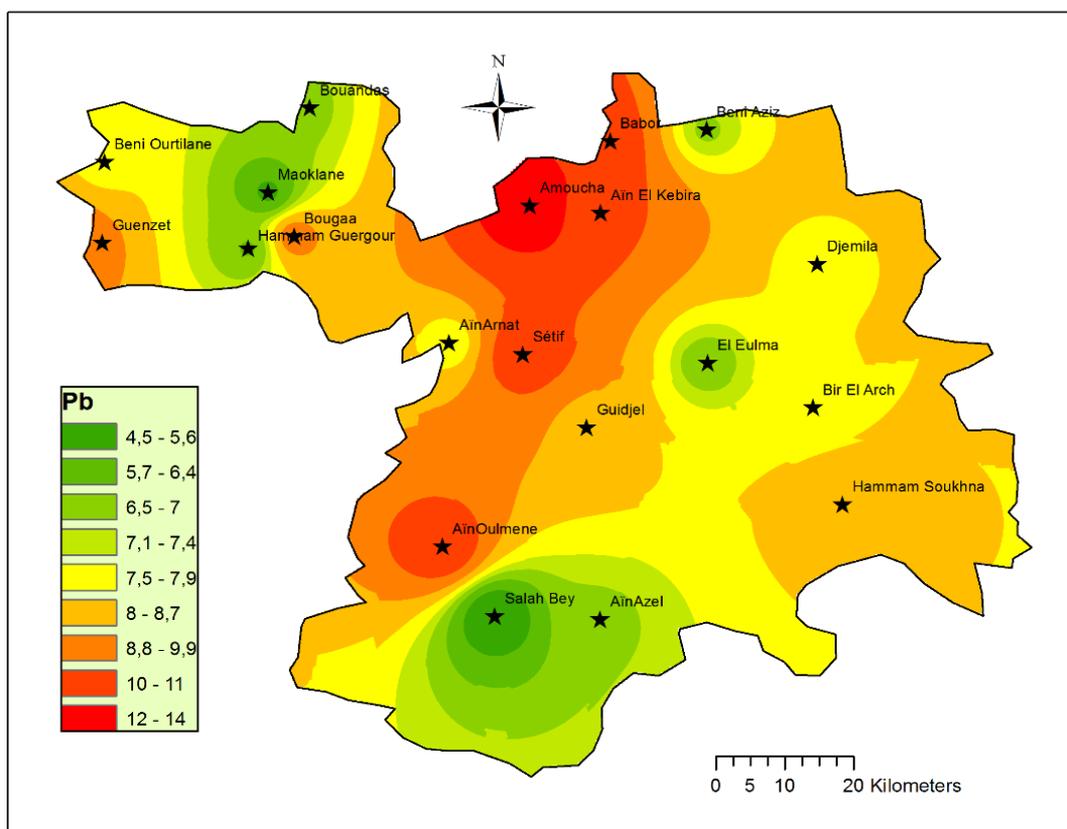


Figure 42 : Carte de distribution de Plomb

2.5. Discussions

Les teneurs en métaux enregistrés dans les différentes stations sont très variables. Elles sont généralement élevées par rapport aux teneurs normales enregistrées dans les stations non polluées.

Les fortes concentrations en ETM dans les échantillons de *Xanthoria parietina* se trouvent dans le Pb. Les niveaux de concentration de Cu et Zn sont relativement proches et dépassent la valeur standard. Les concentrations moyennes de Co et Ni sont très supérieures à la valeur standard. La valeur élevée des teneurs du Pb accumulées dans les thalles du lichen *Xanthoria Parietiena* s'explique par la répartition des émissions liées à la circulation automobile. En

effet, les sites les plus pollués sont localisés dans des secteurs caractérisés par une circulation automobile dense et une forte concentration démographique.

La région de Babor est séparée par rapport aux autres stations en raison des valeurs élevées des ETM trouvées dans cette région montagneuse. Ces résultats sont en concordance avec des études similaires. En France, dans les Vosges et les Alpes, des lichens ont été prélevés selon un gradient altitudinal. La variabilité des concentrations croissantes et des rapports isotopiques du plomb expliquent l'impact des émissions industrielles sur les sommets des chaînes de montagne (Doucet and Carignan, 2001) En Himalaya Bergamaschi *et al.* (2002) ont supposé que le transport des masses d'air contribue à l'enrichissement de Pb, Cu, Zn, Cd et dans les lichens. Les concentrations en cadmium indiquent une pollution de zone éloignée géographiquement des sources anthropiques. En Norvège Berg and Steinnes (1997a), en Suède Ruhling and Tyler (2004) et au Canada Simonetti *et al.* (2003).

Des études ont montré que l'impact du trafic routier était prépondérant sur diverses espèces de lichens urbains pour, Fe, Zn, Pb, Cu et Cd (Garty *et al.*, 1996; Cuny *et al.*, 2001; Zschau *et al.*, 2003; Giordano *et al.*, 2005). Toutefois, le trafic routier n'est pas le seul responsable de l'accumulation des métaux.

Des sources industrielles sont aussi responsables de fortes concentrations en polluants, mesurées dans des lichens de site urbain (Giordano *et al.*, 2005; Cloquet *et al.*, 2006) et en bord de route (Cuny *et al.*, 2001). De plus, les vents entraînent le dépôt préférentiel des émissions industrielles extra et péri urbaines dans une direction et sur zone précise (Freitas *et al.*, 1999; Cloquet *et al.*, 2006; Rusu *et al.*, 2006).

Des corrélations statistiquement significatives ont été trouvées entre Cu et Ni, Cr et Zn. Il y avait aussi de fortes corrélations entre Fe et Pb. Le couplage élevé de Cr et Zn et leur corrélation avec Co indiquent leurs sources communes dans les activités de circulation le long des axes routiers (Demiray *et al.*, 2012). Ces éléments apparaissent dans les composants des véhicules et les lubrifiants (Azimi *et al.*, 2005).

La concentration de plomb dans les sites montagneux du nord était élevée en raison d'un taux d'humidité de l'air plus élevé, comme le suggèrent certains auteurs (Veschambre *et al.*, 2008; Klimek *et al.*, 2015).

Les valeurs de Zn dans les thalles de *Xanthoria parietina* dépassaient la valeur standard. Ces taux élevés sont dus au trafic (Bajpai *et al.*, 2004; Ayrault *et al.*, 2007; Bajpai *et al.*, 2010; Sujetovienė, 2010; Yemets *et al.*, 2014; Kurnaz and Çobanoğlu, 2017) et aux activités industrielles (Scerbo *et al.*, 1999; Scerbo *et al.*, 2002; Brunialti and Frati, 2007; Demiray *et*

al., 2012). Le Zn provient de la circulation automobile et de la poussière de la route ; c'est un composant de l'essence au plomb et sans plomb (Paoli *et al.*, 2018; Ratier *et al.*, 2018; Boamponsem *et al.*, 2017), confirmant ainsi l'accumulation importante de zinc dans les thalles de lichen collectés près des routes de la région de Sétif.

Les niveaux de fer (Fe) dans les thalles lichéniques sont très élevés, cela est dû à l'accumulation de poussières provenant d'activités anthropologiques (Chan *et al.*, 2008 ; Gianini *et al.*, 2012 ; Laupsa *et al.*, 2009).

Les résultats de l'analyse de Cu montrent que les niveaux accumulés dans les thalles sont élevés et dépassent la valeur standard. La valeur la plus élevée en Cu a été observée en particulier dans les communautés rurales du nord de la wilaya de sétif. Ce taux est est probablement dû à l'utilisation de pesticides et d'engrais qui peuvent être des sources d'émission de cuivre (Ötvös *et al.*, 2003; Boamponsem *et al.*, 2010; Bozkurt, 2017). D'autres auteurs expliquent la présence de Cu dans les thalles échantillonnés dans les sites urbains du trafic routier, ainsi qu'à l'activité métallurgique (Bennett and Wright, 2004; Paoli *et al.*, 2016).

Les niveaux de nickel sont élevées au centre de wilaya notamment dans les stations a fort urbanisation et industrialisation. La pollution par le nickel est liée aux émissions provenant de l'industrie métallurgique et des processus de combustion (Białońska and Dayan, 2005; Bergamaschi *et al.*, 2007; Paoli *et al.*, 2016; Paoli *et al.*, 2018; Boonpeng *et al.*, 2017). Les concentrations de chrome dans les zones étudiées sont supérieures à la valeur standard (4,12 mg / kg). Les émissions des véhicules et les activités industrielles peuvent être des sources importantes de pollution atmosphérique par Ni et Cr (Gerdol *et al.*, 2014).

Des concentrations élevées de Co dans les thalles de *X. parietina* ont été observées dans les sites du centre de la wilaya. Les poussières provenant des carrières et des matériaux de construction peuvent être la principale raison de ces concentrations élevées (Agnan *et al.*, 2017)

Les concentrations d'éléments mesurées dans différentes zones urbaines peuvent varier en fonction des sources d'émission de la zone d'échantillonnage, de sa proximité avec les sources, même si les types d'échantillons de lichen et les méthodes d'analyse utilisés sont les mêmes. Cependant, il est nécessaire de faire une comparaison afin de comprendre le degré de pollution et la situation par rapport aux autres régions. Les concentrations moyennes de 7 éléments trouvés dans des échantillons de lichen prélevés dans 20 stations différentes (Fe, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, Pb) sont comparé avec d'autres études similaires.

Les niveaux de Pb mesurés à sétif se sont révélés supérieur à ceux obtenus à la Vallée d'Aspe (Veschambre *et al.*, 2008), la zone industrielle-portuaire Dron *et al.* (2016) et dans les zones rurales en France Agnan *et al.* (2015). En outre à Ancona , en Italie Brunialti and Frati (2007) et à Cordoba; en Argentine Carreras and Pignata (2002). On peut constater aussi qu'elles sont inférieure à ceux rapportés dans les zone urbain et industrielle en Turquie Demiray *et al.* (2012); Bozkurt (2017), en Italie Gerdol *et al.* (2014) et en Slovaquie Dzubaj *et al.* (2008) où les gaz d'échappement et l'industrie étaient très concentrés. D'autre part, pour Co, les études menées en France Veschambre *et al.* (2008); Agnan *et al.* (2015); Dron *et al.* (2016) ont montré des résultats similaires.

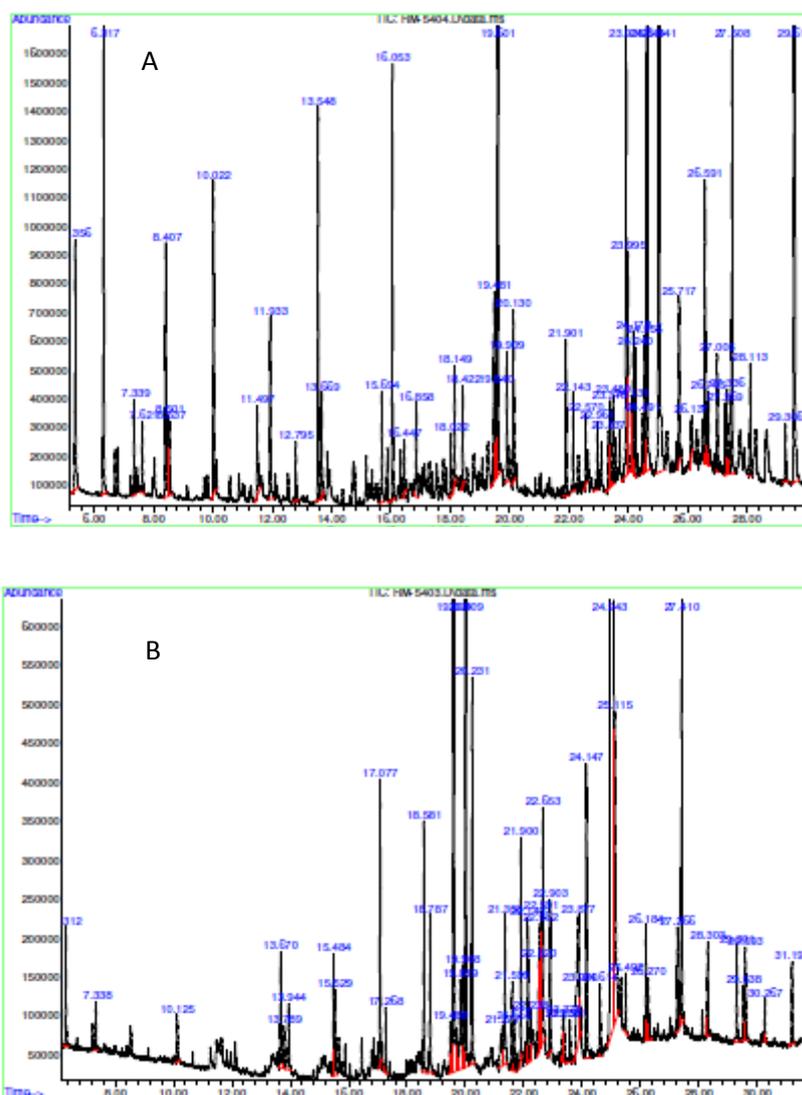
L'étude de l'accumulation des métaux lourds chez *Xanthoria parietina* montre le degré de tolérance de cette espèce lichénique vis-à-vis des éléments étudiés ce qui la qualifie d'être bioaccumulatrice des polluants atmosphériques dont les métaux lourds (Bargagli *et al.*, 2002; Agnan *et al.*, 2017).

3. Résultats des Analyses chimiques

3.1. Composition chimique des huiles essentielles de deux lichens

L'extraction par hydro distillation des huiles essentielles des thalles de deux espèces de lichens a donné un liquide visqueux transparent. L'huile essentielle a été obtenue avec un très faible rendement de 0,01%.

L'analyse chimique des huiles essentielles a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS) (Figure 43).



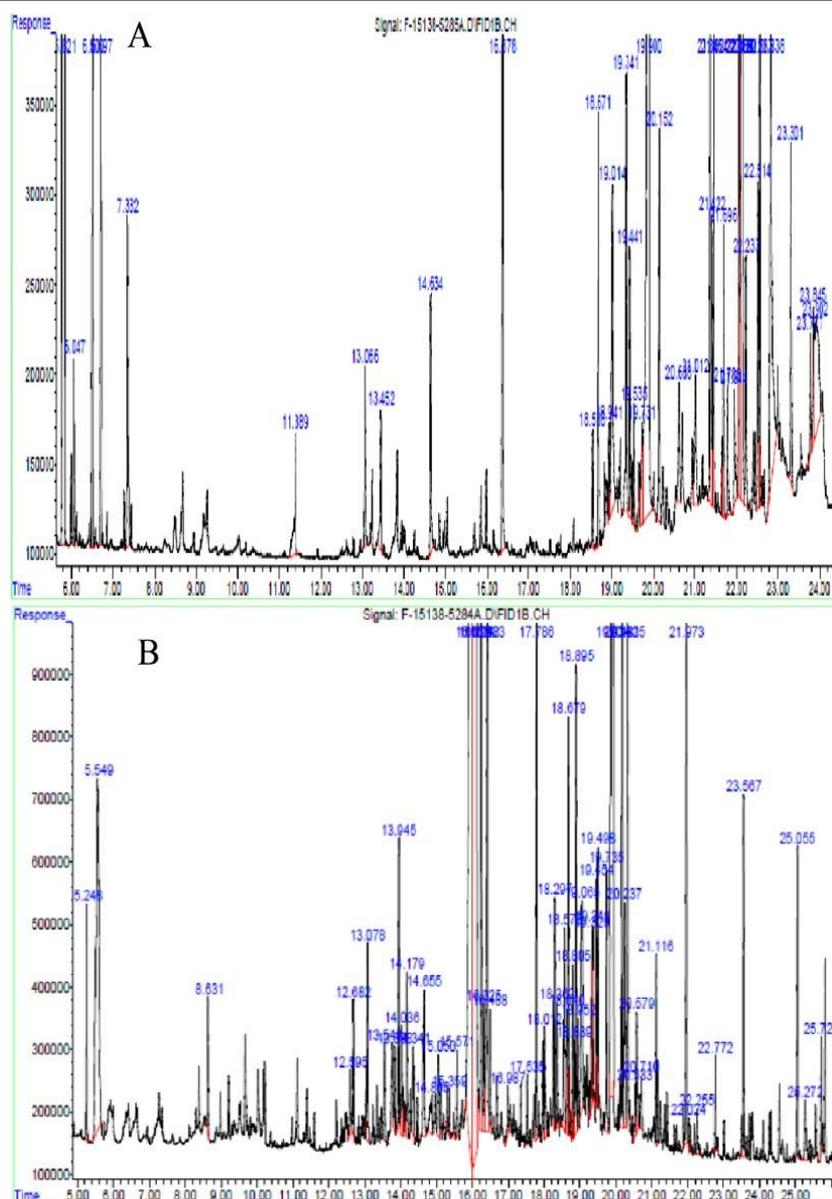


Figure 44 : profile GC/FID de deux lichens (A-*E. prunastri*, B- *R. Farinace*)

L'identification des composants chimiques est basée sur la comparaison de leurs spectres de masse avec ceux de la bibliothèque spectrale de masse (Masada, 1976; NIST, 2002) et ceux décrit par Adams ainsi que sur la comparaison de leurs indices de rétention soit avec ceux de composés authentiques ou avec des valeurs de la littérature (Adams, 2007).

Les composées identifiées dans ces huiles ainsi que leurs abondances relatives sont représentés par ordre de leurs apparitions (Tableau 13).

Tableau 13 : Composition chimique de l'huile essentielle de deux lichens.

		<i>E. Prunastri</i>	<i>R. farinacea</i>
Nombre de composant	KI	32	34
Total %		93,82	77,05
α - Pinene	940	0,66	4,04
β -pinene	984	0,28	0,59
Myrcene	996	0,00	0,79
Cymene-ortho	1032	0,00	1,65
Limonen	1037	0,00	1,09
β -phellandrene	1038	0,00	0,03
linalool	1108	0,00	2,43
n- Nonanal	1113	0,29	0,00
Borneol	1184	0,00	0,38
α -Terpineol	1206	0,00	1,23
Cogeiijerene	1254	0,00	1,14
Bornyl acetate	1295	0,00	0,43
Undecanone-2	1302	0,68	1,29
Tridecene	1309	0,28	0,00
Undecanale	1319	0,51	0,00
Tetradecane	1410	0,60	0,00
Tridecanone-2	1413	0,49	0,00
Cymene-2.5-d-methoxy	1423	0,00	0,52
Crowceacin	1446	0,00	2,54
Gemacrene D	1497	0,00	0,63
Pentadecane	1511	1,41	0,00
Tridecanal	1524	0,35	0,00
Nerolidol-E	1574	0,00	0,71
Inone dimethyl	1582	0,00	0,88
Caryophyllene oxide	1601	0,00	0,80
Hexadecane	1612	1,46	0,00
Tetradecanal	1626	0,97	0,00
Cedrol-epi	1675	0,37	0,00
Cubenol-1,10 Diepi	1675	0,00	0,87
n-tetradecanol	1683	8,27	7,68
Heptadecane	1713	4,70	0,00
Tredecenol acetate	1729	2,05	0,00

Suite tableau 13.

Pentadecanol-n	1807	0,68	0,00
Octadecane	1813	0,84	0,00
Isopropyle tetradecanoate	1837	0,78	0,00
n-hexadecanol	1907	2,32	0,00
Nonadecane	1915	1,83	0,00
7-hexadecane-16-olide-Z	1935	0,80	0,00
Acetoxyeudesmen 4- α -ol-11	1973	0,55	0,00
Eicosene-1	2015	3,82	8,26
Manoole oxide-13-epi	2020	0,00	5,40
Kaurene	2025	0,00	0,42
Manool	2077	0,49	14,21
n-octadecanol	2106	54,06	10,24
Docosene-1	2154	0,40	0,74
Docosene	2217	0,69	1,47
Octadecanol acetate	2224	0,75	0,00
Abietal dehydro	2292	0,00	0,92
Tricosane	2317	0,53	0,48
Abietal	2340	0,00	3,75
Tetracosane	2418	0,52	0,93
Pentacosane	2518	0,65	0,51
Hexacosane	2620	0,25	0,00
Heptacosane	2721	0,49	0,00

3.1.1. Classe chimique de l'huile essentielle d'*Evernia prunastri*

L'analyse chromatographique par (CG/SM) nous a permis d'identifier 34 composés terpéniques dans l'huile essentielle d'*Evernia prunastri* représentant 93,82% du total de l'huile. Les principaux composants de cette huile sont le n-octadecanol (54,06%), n-tetradecanol (8,27%), Heptadecane (4,70%), Eicosene-1 (3,82%), n-hexadecanol (2,32%), Tredecenol acetate (2,05%), et Nonadecane C19 (1,83%).

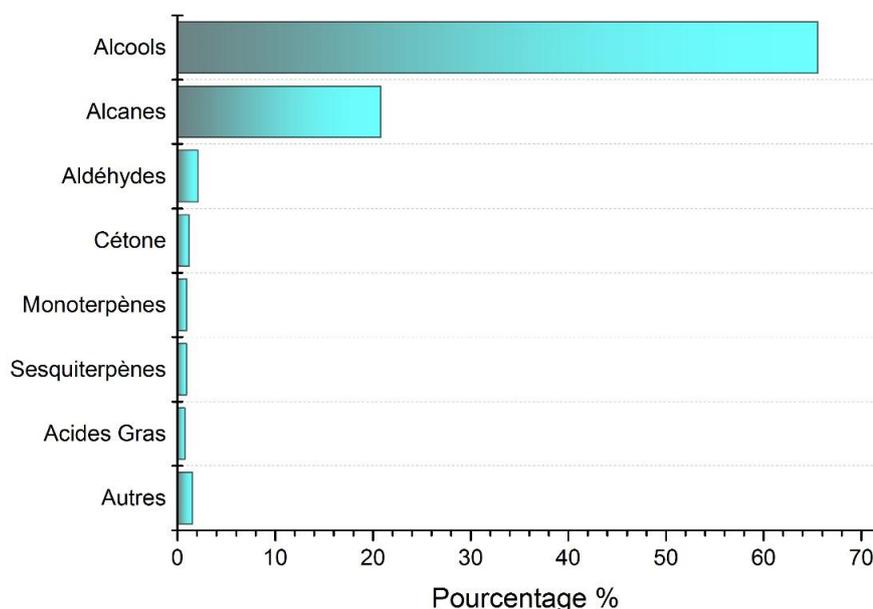
L'huile essentielle de l'espèce *Evernia prunastri* est riche en Alcools qui représentent 65,55% du totale de l'huile (Tableau 14) Sur les 5 Alcools le n-octadecanol, est le principal composé dominant de cette classe, alors que le reste des composés sont représentés avec des taux faibles.

Tableau 14 : Classe chimique et composé majoritaire d'*Evernia prunastri*

Familles chimiques	Nombre de composés	Pourcentage (%)	Composés majoritaires
Monoterpènes	2	0.94	α -pinene
Sesquiterpènes	2	0.92	Acetoxy eudesmen 4 α -ol-11
Alcanes	16	20.79	Heptadecane
Aldéhydes	4	2.12	Tetradecanal
Cétone	2	1.17	Undecanone-2
Alcools	5	65.55	n-octadecanol
Acides Gras	1	0.78	Isopropyle tetradecanoate
Autres	2	1.55	

Les alcanes représentent la deuxième classe la plus importante, (Figure 45), avec un pourcentage élevé 20.79%, l'Heptadecane, le Nonadecane, l'Eicosene-1 sont les produits les plus abondants, alors que les autres composés sont faiblement représentés avec des taux faible variant de 0.25% à 0.84%. Les composées aldéhydes, représentent un taux 2.12% du total de l'huile, avec l'abondance du Tetradecanal. Les monoterpènes, cétone et sesquiterpènes, représentent des taux faibles.

Les acides gras représentent la classe la plus faible représentées par une seule composée à taux très faible de 0.78%.

Figure 45 : Les classes chimiques d'*Evernia prunastri*

3.1.2. Classe chimique de l'huile essentielle de *Ramalina farinacea*

Dans l'huile essentielle de *Ramalina farinacea* 32 composants ont été caractérisés, représentant 76,04% du totale de huile. Le Manool avec un taux de 14.2%, n-octadecanol (10.24%) Eicosene-1 (8.26%) n-tetradecanol (7.68%) Manoole oxide-13-epi (5.40%) α -pinene (4.04%) Abietal (3.75%) linalool (2.43) sont identifiés comme les principaux constituants dans cette huile.

La classe des Alcools est prédominante dans l'huile essentielle de l'espèce *Ramalina farinacea* avec un taux de 33.74% (Tableau 15). Les composés les plus représentatifs dans cette classe sont le manool, le n-octadecanol, le n-tetradecanol, Les autres alcools sont représentés avec des taux faibles.

Les alcanes représentent 12.39% avec l'abondance de l'Eicosene-1 avec un taux de 8.26%.

Les monoterpènes sont représentées par 8 composants avec un Pourcentage de 11.54%, et l'abondance de l' α - Pinene (4.04 %), alors que les autres composés sont faiblement représentés.

Tableau 15 : Classe chimique et composé majoritaire de *Ramalina farinacea*

Familles chimiques	Nombre de composés	Pourcentage (%)	Composé majoritaire
Monoterpènes	8	11.54	α - Pinene
Diterpènes	2	5.82	Manoole oxide-13-epi
Sesquiterpènes	3	2.14	Caryophyllene oxide
Alcanes	6	12.39	Eicosene-1
Cétone	1	1.29	Undecanone-2
Alcools	5	33.74	Manool
Autres	7	9.83	

Les Diterpènes sont représentés dans cette huile par deux principaux composants (Figure 46), le Manoole oxide-13-epi avec un pourcentage de 5.40 % et le Kaurene avec un pourcentage de 0.42%.

Les classes chimiques des Sesquiterpènes et des Cétone sont présentés avec un pourcentage faible.

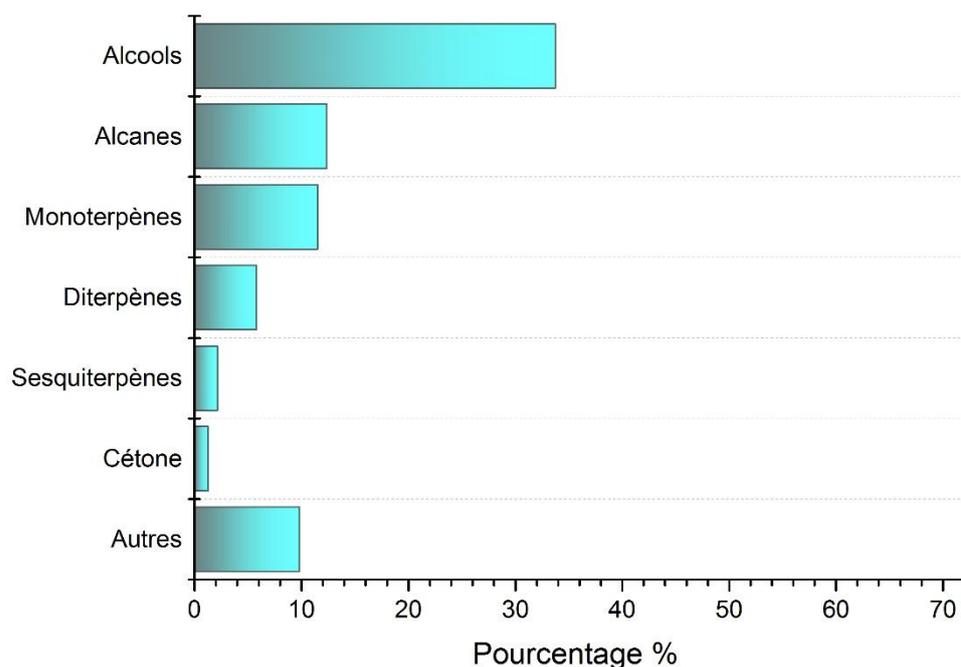


Figure 46 : les classes chimiques de *Ramalina farinacea*

3.2. Résultat microbiologique des huiles essentielles

Les tests de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de deux espèces du lichen ont été réalisés par la méthode de l'aromatogramme. Cette méthode permet de déterminer l'activité inhibitrice de croissance des bactéries par les huiles essentielles. Les résultats sont exprimés par la mesure du diamètre D des halos d'inhibition en mm, après 24h d'incubation à l'étuve à 37°C.

L'activité antimicrobienne a été évaluée en observant le pouvoir inhibiteur des huiles essentielles de *Evernia Prunastri* et de *Ramalina farinacea* à différentes concentrations sur les quatre bactéries (Tableau 16).

Selon Rossi *et al.* (2007), les huiles essentielles sont considérées actives si elles produisent des diamètres d'inhibitions de croissances microbiennes supérieurs ou égaux à 15mm.

Les diamètres du halo d'inhibitions produits par l'antibiotique sur les souches microbiennes testées varient entre 14 et 26 mm.

Les diamètres des halos d'inhibition générés par l'huile essentielle pure d'*Evernia prunastri* variés entre 7 et 12 mm, les bactéries à Gram négatif, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus epidermidis* montrent une sensibilité pour cette huile avec des diamètres d'inhibitions qui varient entre 9 et 12mm. Cette huile est modérément sensible contre *Staphylococcus aureus* et *Echerichia coli* avec un diamètre d'inhibition 7mm

Aux dilutions 1/2, 1/5 de l'huile essentielle de *E. prunastri*, la sensibilité des souches bactériennes est modérée et le diamètre le plus élevé de 9 mm est mesuré pour la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*. Pour la concentration de 1/2 l'*Echerichia coli* montre une résistance aux dilutions de l'huile essentielle

Pour *R. farinacea*, son huile essentielle a généré des halos d'inhibitions variant de 7 à 10 mm. Les diamètres d'inhibitions, pour l'huile pure est modérément active contre toutes les souches microbiennes, les plus sensibles sont observées sur les *Pseudomonas aeruginosa* avec un halo de 10 mm. La dilution 1/2 présentent une activité faible sur les souches bactériennes étudiées avec des diamètres d'inhibition de 7mm alors qu'elle est nulle pour la concentration 1/5 pour les quatre souches. Ce qui indique que l'effet de l'huile de *Ramalina farinacea* sur les bactéries est très faible.

Tableau 16 : activité antimicrobienne

Souches microbiennes	G	<i>E. prunastri</i>			<i>R. farinacea</i>		
		Dilution					
		1	1/2	1/5	1	1/2	1/5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	25	7	7	0	7	0	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC12228	23	9	7	8	8	7	0
<i>Echerichia coli</i> ATCC 25922	14	7	0	0	8	7	0
<i>Pseudomonac aeruginosa</i> ATCC 27853	26	12	9	8	10	7	0
G=Gntamicine							

3.3. Discussion

Plusieurs auteurs Stoll and Scherre (1937); Gavin *et al.* (1978); Seu-Salerno and Blakeway (1987) ont identifié dans les lichens des substances plus ou moins volatiles. Les huiles essentielles de *Evernia prunastri* et *Ramalina farinacie* sont riche en composés chimiques, monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes et divers terpénoïdes (Gavin *et al.*, 1978; Joulain and Tabacchi, 2009; Kahrman *et al.*, 2011).

Une étude en Turquie sur les huiles essentielles d'*E. prunastri* et d'*E. divaricata* (Kahriman *et al.*, 2011) montre que les principaux composants des huiles sont des hydrocarbures monoterpéniques et sont l' β -pinène (6,3% et 8,0%), l' α -Pinène (6,6%, 7,2%), le limonène (1,6%, 6,3%), phellandrène (3,3%, 4,4%), camphène (3,0%, 3,1%) et p-cymène (1,5%, 1,8%). En comparaison les huiles essentielles de certaines espèces de lichen, les terpénoïdes sont les principaux constituants (Joulain and Tabacchi, 2009).

Une autre étude sur la composition chimique des huiles de deux espèces de *Cladonia* (*Cladonia rangiformis*, *Cladonia furcata*) (Kahriman *et al.*, 2012), montre que les huiles essentielles sont principalement composées d'alcools (29,4% et 1,6%), de cétone (21,7% et 18,6%) et d'hydrocarbures (13,1% et 57,6%), par contre dans notre étude, les huiles essentielles de l'*Evernia prunastri* et *Ramalina farinacie* sont principalement composées d'alcools (65.55% et 33.74%), des Alcanes (20.79% et 12.39%) et de Monoterpènes (0.94% et 11.54%). L'environnement où se développent les végétaux détermine leur contenu chimique. Parmi les facteurs qui influencent la variation des constituants chimiques chez les populations de lichens, divers auteurs décrivent l'intensité lumineuse, le taux d'humidité, l'âge des thalles, la région échantillonnée et la température (Mirando and Fahselt, 1978; Hamada, 1983; Stepanenko *et al.*, 1985; Legaz *et al.*, 1986; Vicente and Avalos, 1986).

Dans cette étude, les extraits de lichens testés ont montré une activité antimicrobienne relativement faible. L'intensité de l'effet antimicrobien dépend de l'espèce de lichen, de la méthode d'extrait des composés, de sa concentration et de l'organisme testé. Les extraits d'acétone, du chloroforme, d'éther diéthylique et du méthanol ont montré la présence d'une activité antimicrobienne significative contre plusieurs bactéries et champignons (Candan *et al.*, 2007).

L'extrait d'hexane d'*Evernia Prunastri* présentait une faible activité antimicrobienne parmi les espèces testées (Aslan *et al.*, 2006; Rankovic *et al.*, 2010). Les extraits d'acétone des espèces de *Parmelia* ont été examinés, ils ont montré une forte activité antimicrobienne et cytotoxique (Kosanic *et al.*, 2011). Les différences dans l'activité antimicrobienne des différentes espèces de lichens étudiées sont probablement une conséquence de la présence de plusieurs composants ayant une activité antimicrobienne (Aslan *et al.*, 2006; Adedapo *et al.*, 2008; Rankovic *et al.*, 2010; Kosanic *et al.*, 2011)

Dans les études de Santiago *et al.* (2013). Les extraits de lichen contre les bactéries à Gram négatif et Gram positif étaient inactifs à partiellement actifs. En outre, l'absence d'activité inhibitrice a été observée contre les agents phytopathogènes fongiques. Les extraits bruts de

lichen de *Ramalina* n'ont pas empêché la croissance mycélienne de ces champignons testés. Les résultats de cette étude étaient similaires à ceux obtenus par Candan *et al.* (2006) et Tiwari *et al.* (2011).

Les extraits à l'éthanol, au chloroforme et au n-hexane de *Ramalina farinacea* ont été trouvés actifs contre *E. coli* et *P. aeruginosa* (Esimone and Adikwu, 1999). Une activité antibactérienne contre ces deux bactéries a été observée dans l'étude de Kekuda *et al.* (2009). L'activité antibactérienne de neuf lichens et activité observée principalement contre les bactéries à Gram positif (Rowe *et al.*, 1989).

Environ 52% des lichens américains ne sont actifs que contre les bactéries à Gram positif (Rowe *et al.*, 1989). Les espèces de lichen finlandais inhibent la croissance des bactéries gram positives et gram négatives (Vartia, 1949, 1950). La plupart des lichens brésiliens sont actifs contre les bactéries gram positives (Silva *et al.*, 1986).

Conclusion & Perspectives

Conclusion et perspectives :

En conclusion, les travaux décrits dans ce travail montrent que l'étude des communautés lichéniques effectuée sur les 60 stations (communes) est très variable et montre une diversité lichénique globale de 42 espèces corticoles, dont 12 familles différentes. Concernant les espèces lichéniques, on dénombre 18 espèces crustacées, 21 espèces foliacées, 2 espèces granuleuses et une espèce squamuleux. L'analyse au niveau des familles lichéniques identifiées nous révèle l'importance de la famille des *Teloschistaceae*, regroupant des espèces du genre *Caloplaca* et le genre *Xanthoria* pour la famille des *Lecanoraceae*. L'identification des espèces a permis d'apprécier globalement le degré de pollution dans les stations étudiées par l'approche de bio indication basée sur deux indices IQA et IPA. à la base de ces indices, nous avons établies des cartes de pollution de la wilaya de Sétif montrant que les communes du Nord sont moins polluées (Oued Elbared, Ait Nauoual, Bounadas, Beni Chebana, Beni Mouhli) que celles des communes de centre (El Eulma et Sétif), ainsi que les communes de sud (Ain Lahjer, Taya, Tella, Ain Azel, Guedjel).

Concernant la bioaccumulation, les teneurs en éléments métalliques (Co, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb et Zn) montrent une forte variation entre les différents sites (daïra) de la région des études et de façon importante pour le Pb dépassant les valeurs standard dans le lichen *Xanthoria parietina*

L'ensemble des observations constatées à partir des classes de pollution a permis la cartographie des retombées des éléments traces métalliques (Co, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb et Zn). Les cartes de pollution, montrent que les zones à fortes teneurs en éléments traces métalliques dans des sites localisés dans les zones urbaines et industrielle relativement fortes soumises à un trafic routier très dense. Ces cartes permettent de répondre aux questions concernant le problème de la répartition de la pollution atmosphérique dans la willaya de Sétif.

L'étude phytochimique, et activités biologiques, les huiles essentielles de deux espèces des lichens étudiées ont données un rendement faible. La composition chimique des huiles essentielles a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse. Les analyses de la composition chimique des huiles essentielles de *Evernia prunastri* et *Ramalina farinacie* ont permis d'identifier 32 et 34 composés respectivement. L'huile essentielle d'*Evernia prunastri* s'est avérée largement dominée par les alcools (65.55%) alors que celle de *Ramalina farinacie* est (33.74%).

L'évaluation des activités antibactériennes des huiles essentielles obtenues a été réalisée sur des souches de références. Les huiles essentielles ont montré une activité antimicrobienne relativement faible.

Ces travaux de thèse peuvent être servir de base pour des recherches futures, au niveau de la bioaccumulation et de la bioindication et considérer comme une étape préliminaire dans l'étude de la sensibilité des autres espèces lichéniques face aux contaminants métalliques.

Il serait intéressant de réaliser le même travail sur une période plus longue pour étudier l'évolution de la pollution.

Il est important dans le futur de créer une association Algérienne de lichénologie

Nous espérons que notre travail contribue à faire progresser les connaissances sur la flore lichénique et les différentes utilisations de ces groupes des organismes.

Références bibliographiques

- Adams (2007) *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy*. Carol Stream. IL, Allured Publishing Corporation. USA,.
- Adedapo A., Jimoh F., Koduru S., Afolayan J.A. and Masika J.M. (2008) Antibacterial and antioxidant properties of the methanol extracts of the leaves and stems of *Calpurina aurea*. *BMC Compl. Altern. Med* **8**, 53-60.
- Adriano D.C. (2001) *Trace Elements in Terrestrial Environments Biogeochemistry, Bioavailability, and Risks of Metals*. Springer-Verlag, Berlin.
- AFNOR (2000) *Huiles essentielles. Tome 2, Monographies Relatives aux Huiles Essentielles*, Paris.
- Agnan Y. (2013) Bioaccumulation et bioindication par les lichens de la pollution atmosphérique actuelle et passée en métaux et en azote en France: sources, mécanismes et facteurs d'influence, *These de doctorat : Université de Toulouse* 307 p
- Agnan Y., Probst A. and Séjalon-Delmas N. (2017) Evaluation of lichen species resistance to atmospheric metal pollution by coupling diversity and bioaccumulation approaches: A new bioindication scale for French forested areas. *Ecol Indic* **72**, 99-110.
- Agnan Y., Séjalon-Delmas N., Claustres A. and Probst A. (2015) Investigation of spatial and temporal metal atmospheric deposition in France through lichen and moss bioaccumulation over one century. *Science of the Total Environment* **529**, 285-96.
- Agnan Y., Séjalon-Delmas N. and Probst A. (2013) Comparing early twentieth century and presentday atmospheric pollution in SW France: A story of lichens. *enviromental pollution* **172**, 139–48.
- Ahluwalia V.K. and Kidwai M. (2004) Environmental Pollution. In: *New Trends in Green Chemistry*. Springer, Dordrecht.
- Ait Hammou M., Miara M.D., Rebbas k., Slimani A., Ravera S. and Hamer el ain A. (2014) Mise à jour de l'inventaire des lichens d'Algérie. *1 Revue Ecologie-Environnement* **10**, 75-103.
- Aprile G.G., Catalano I., Migliozi A. and Mingo A. (2011) Monitoring epiphytic lichen biodiversity to detect environmental quality and air pollution: the case study of Roccamonfina Park (Campania Region - Italy). *In Air Pollution - New Developments*, 227-44.
- Asahina Y. and Shibata .S. (1954) *Chemistry of Lichen Substances*. Lubrecht & Cramer Ltd.
- Aslan A., Budak G. and Karabulut A. (2004) The amounts Fe, Ba, Sr, K, Ca and Ti in somes lichens growing in Erzurum province, (Turkey). *Journal of Quantitative Spectroscopy & Relative Transfer* **88**, 423-31.
- Aslan A., Gulluce M., Sokmen M., Adiguzel A., Sahin F. and Ozkan H. (2006) Antioxidant and antimicrobial properties of the lichens *Cladonia foliacea*, *Dermatocarpon miniatum*, *Evernia divaricata*, *Evernia prunastri* and *Neofuscella pulla*. *Pharmaceut. Biol* **44**, 247-52.
- Asta J., Erhardt W., Ferretti M., Fornasier F., Kirschbaum U., Nimis P., et al. (2002) European guideline for mapping lichen diversity as an indicator of environmental stress. *Br Lichen Soc, UK*.
- Astous C. (1989) *A la découverte des parfums*. Éditions Québec / Amérique, Québec.
- Attanayaka A. and Wijeyaratne S. (2013) Corticolous lichen diversity, a potential indicator for monitoring air pollution in tropics. *J Nat Sci Foundation Sri Lanka* **41**, 131-40.

- Aubert S., Juge C., Boisson A.M., Gout E. and Bligny R. (2007) Metabolic processes sustaining the reviviscence of lichen *Xanthoria elegans* (Link) in high mountain environments. *Planta* **226**, 1287–97.
- Ayrault S., Clochiatti R., Carrot F., Daudin L. and Bennett J.P. (2007) Factors to consider for trace element deposition biomonitoring surveys with lichen transplants. *Science of the Total Environment* **372**, 717-27.
- Azimi S., Rocher V., Muller M., Moilleron R. and Thevenot D.R. (2005) Sources, distribution and variability of hydrocarbons and metals in atmospheric deposition in an urban area (Paris, France). *Science of the Total Environment* **337**, 223-39. .
- Bajpai R., Upreti D.K. and Dwivedi S.K. (2010) Passive monitoring of atmospheric heavy metals in a historical city of central India by *Lepraria lobificans* Nyl. *Environ. Monit. Assess.*, **166**, 477–84.
- Bajpai R., Upreti D.K. and Mishra S.K. (2004) Pollution monitoring with the help of lichen transplant technique at some residential sites of Lucknow. *Environ. Biol* **25**, 191–5.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. and Idaomar M. (2008) Biological Effects of Essential Oils- A Review. *Food Chem Toxicol* **46**, 446-75.
- Bargagli R. (1993) Plant leaves and lichens as biomonitors of natural or anthropogenic emissions of mercury. *Plants as biomonitors: indicators for heavy metals in the terrestrial environment*. B. A. Markert, éd, 461-84p. VCH, Weinheim, New York.
- Bargagli R. (1998) *Trace Elements in Terrestrial Plants: An Ecophysiological Approach to Biomonitoring and Biorecovery*. Springer-Verlag, Berlin.
- Bargagli R. and Barghigiani C. (1991) Lichen biomonitoring of mercury emission and deposition in mining, geothermal and volcanic areas of Italy. *Environmental Monitoring and Assessment* **16**, 265.
- Bargagli R. and Mikhailova I. (2002) Accumulation of inorganic contaminants. In: *Monitoring with Lichens—monitoring Lichens* 65–84.
- Bargagli R., Monaci F., Borghini F., Bravi F. and Agnorelli C. (2002) Mosses and lichens as biomonitors of trace metals: a comparison study on *Hypnum cupressiforme* and *Parmelia caperata* in a former mining district in Italy. *Environmental Pollution* **116**, 279-87.
- Basile A., Sorbo S. and Aprile G. (2008) Comparison of the heavy metal bioaccumulation capacity of an epiphytic moss and an epiphytic lichen. *environmental pollution* **151**, 401–7.
- Bassiri T. (1960) *Introduction à l'étude des parfums : matières premières aromatiques d'origine naturelle et de synthèse*. Masson et Cie, Paris.
- Baulig A., Blanchet S., Baeza-Squiban A. and Marano F. (2004) Rôle des particules atmosphériques (PM e 2,5 pm) dans l'induction des pathologies respiratoires d'origine inflammatoire. Comparaison avec les particules diesel. *Air Pur* **66**, 47-8.
- Becker D.F.P., Linden R. and Schmitt J.L. (2017) Richness, coverage and concentration of heavy metals in vascular epiphytes along an urbanization gradient. *Sci. Total Environ* **584**, 48–54.
- Belhadj H., Hellal B., Ayad N. and Ayache A. (2015) Quantification de l'émission de Plomb dans le milieu urbain de Sidi Bel Abbés (Algérie Occidentale). *European Scientific Journal* **11**, 13.
- Bennett J.P. and Wright D.M. (2004) Element content of *Xanthoparmelia scabrosa* growing on asphalt in urban and rural New Zealand. *Bryologist* **107**, 421–8.

- Berg T. and Steinnes E. (1997a) Recent trends in atmospheric deposition of trace elements in Norway as evident from the 1995 moss survey. *Science of the Total Environment* **208**, 197-206.
- Berg T. and Steinnes E. (1997b) Use of mosses (*Hylocomium splendens* and *Pleurozium schreberi*) as biomonitors of heavy metal deposition: from relative to absolute deposition values. *Environmental Pollution* **98**, 61-71.
- Bergamaschi L., Rizzio E., Giaveri G., Loppi S. and Gallorini M. (2007) Comparison between the accumulation capacity of four lichen species transplanted to a urban site. *Environmental Pollution* **148**, 468–76.
- Bergamaschi L., Rizzio E., Valcuvia M.G., Verza G., Profumo A. and Gallorini M. (2002) Determination of trace elements and evaluation of their enrichment factors in Himalayan lichens. *Environmental Pollution* **120**, 137–44.
- Berlizov A.N., Blum O.B., Filby R.H., Malyuk I.A. and Tryshyn V.V. (2007) Testing applicability of black poplar (*Populus nigra* L.) bark to heavy metal air pollution monitoring in urban and industrial regions. *The Science of the Total Environment* **372**, 693-706.
- Bermudez G.M.A., Rodriguez J.H. and Pignata M.L. (2009) Comparison of the air pollution biomonitoring ability of three *Tillandsia* species and the lichen *Ramalina celastri* in Argentina. *Environmental Research* **109** 6-14.
- Białońska D. and Dayan F.E. (2005) Chemistry of the lichen *Hypogymnia physodes* transplanted to an industrial region. *J. Chem. Ecol* **31**, 2975–91.
- Bliefert C. and Perraud R. (2001) *Chimie de l'environnement : eau, air, sol, déchets*. De Boeck Université.
- Bliefert C. and Perraud R. (2008) *Chimie de l'environnement : air, eau, sols, déchets*. De Boeck Supérieur.
- Boamponsem L.K., Adam J.I., Dampare S.B., Nyarko B.J.B. and Essumang D.K. (2010) Assessment of atmospheric heavy metal deposition in the Tarkwa gold mining area of Ghana using epiphytic lichens. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* **268**, 1492–501.
- Boamponsem L.K., Freitas C.R.D. and Williams D. (2017) Source apportionment of air pollutants in the Greater Auckland Region of New Zealand using receptor models and elemental levels in the lichen, *Parmotrema reticulatum*. *Atmos. Pollut. Res* **8**, 101–13.
- Boonpeng C., Polyiam W., Sriviboon C., Sangiamdee D., Waththana S., Nimis P. and Boonpragob K. (2017) Airborne trace elements near a petrochemical industrial complex in Thailand assessed by the lichen *Parmotrema tinctorum* (Despr. ex Nyl.) Hale. *Environ. Sci. Pollut. Res* **24**, 12393–404.
- Bouchereau J.M., . (1992) Estimation des émissions atmosphériques de métaux lourds en France pour le Cr, le Cu, le Ni, le Pb et le Zn,. *Centre Interprofessionnel Technique d'Etudes de la Pollution Atmosphérique (CITEPA), Paris*.
- Bozkurt Z. (2017) Determination of airborne trace elements in an urban area using lichens as biomonitors. *Environ Monit Assess*, 189-573.
- Bradl H.B. (2005) *Heavy metals in the environment: origin, interaction and remediation*. Elsevier Academic Press, Amsterdam; Boston.
- Branquinho C., Brown D.H., Máguas C. and Catarino F. (1997) Lead (Pb) uptake and its effects on membrane integrity and chlorophyll fluorescence in different lichen species. *Environ Exp. Bot* **37**, 95–105.

- Bruneton J. (2009) *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales*. Tec et Doc, Lavoisier, Paris.
- Brunialti G. and Frati L. (2007) Biomonitoring of nine elements by the lichen *Xanthoria parietina* in Adriatic Italy: A retrospective study over a 7-year time span. *Science of the Total Environment* **387**, 289–300.
- Büdel B. and Scheidegger C. (2008) Thallus morphology and anatomy. In: *Lichen Biology T. Nash, III (Ed.)*, pp. 40-68.
- Burt S. (2004) Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of Food and Microbiology* **94**, 223-53.
- Cáceres M., Lücking R. and Rambold G. (2007) Phorophyte specificity and environmental parameters versus stochasticity as determinants for species composition of corticolous crustose lichen communities in the Atlantic rain forest of northeastern Brazil. *Mycological Progress*. **6**, 117–36.
- Candan M., Yilmaz M., Tay T., Erdem M. and Turk A.O. (2007) Antimicrobial activity of extracts of the lichen *Parmelia sulcata* and its salazinic acid constituent. *Z Naturforsch.* **62**, 619-21.
- Candan M., Yilmaz M., Tay T. and Kivanç M. (2006) Antimicrobial activity of extracts of the lichen *Xanthoparmelia pokornyi* and its gyrophoric and stenosporic acid constituents. *Z Naturforsch* **49**, 95-107.
- Carreras H.A. and Pignata M.L. (2002) Biomonitoring of heavy metals and air quality in Cordoba City, Argentina, using transplanted lichens. *Environmental Pollution* **117**, 77–87.
- Carreras H.A., Wannaz E.D. and Pignata M.L. (2009) Assessment of human health risk related to metals by the use of biomonitors in the province of Cordoba, Argentina. *Environmental Pollution* **157** 117-22.
- Catalyud A. and Barreno E. (2004) Response to ozone in two lettuce varieties on chlorophyll a fluorescence, photosynthetic pigments and lipids peroxidation. *Plant Physiology and Biochemistry* **42**, 549-55.
- Catinon M. (2010) Détermination de la pollution atmosphérique métallique : étude critique de l'utilisation des écorces d'arbres., *These de Doctorat : Université de Joseph Fourier - Grenoble I* 206 p
- Chovin P. and Roussel A. (1968) *La pollution atmosphérique*. Presses universitaires de France, Paris.
- Cislaghi C. and Nimis P.L. (1997) Air pollution and lung cancer. *Nature* **387**, 463-4.
- Clarke S. (2008) *Chemistry of Essential Oil*. Elsevier. British.
- Clauzade G. and Roux C. (1985) *Likenoj de Okcidenta Eŭropo. Ilustrita determinlibro*. Royan, S.B.C.O. édit. (Bull. Soc. bot. Centre-Ouest, n° spéc. 7).
- Cloquet C., Carignan J. and Libourel G. (2006) Atmospheric pollutant dispersion around an urban area using trace metal concentrations and Pb isotopic compositions in epiphytic lichens. *Atmospheric Environment* **40**, 574-87.
- Collombet C. (1989) Lichen d'island et lichen pulmonaire, *These de Doctorat: Université de Joseph Fourier, Grenoble I* 115 p
- Conti M.E. and Cecchetti G. (2001) Biological monitoring: lichens as bioindicators of air pollution assessment — a review. *Environmental Pollution* **114**, 471-92.

- Costa C.J., Marques A.P., Freitas M.C., Reis M.A. and et Oliveira O.R. (2002) Acomparative study for results obtained using biomonitors and PM10 collectors in Sado Estury. *Environemental Pollution* **120**, 97-106.
- Culberson C.F. and Elix J.A. (1989) Lichen substances. *In Methods in Plant Biochemistry* **1**, 509-35.
- Cuny D. (2012.) La biosurveillance végétale et fongique de la pollution atmosphérique : concepts et applications. *Annales Pharmaceutiques Françaises* **70**, 182-7.
- Cuny D., Davranche L., Thomas P., Kempa M.e. and Van Haluwyn C. (2004) Spatial and temporal variations of trace element contents in *Xanthoria parietina* thalli collected in a highly industrialized area in Northern France as an element for a future epidemiological study. *Journal of Atmospheric Chemistry* **49**, 391-401.
- Cuny D., Rzepka M.A. and Van Haluwyn C. (2008) Introduction à la biosurveillance végétale et fongique de la qualité de l'air – concept et intérêt. *Spectra Analyse* **264**, 31-5.
- Cuny D., Van Haluwyn C. and Pesch R. (2001) Biomonitoring of trace elements in air and soil compartments along the major motorway in France. *Water Air Soil Pollut.* **125**, 273-89.
- Dahl W. (2003) Contribution à l'étude des métabolites secondaires chez les lichens fruticuleux *Cladina stellaris* et *Cladina rangiferina*, *These de Doctorat : Université de Québec à Chicoutimi*
- Das P., Joshi S., Rout J. and Upreti D.K. (2013) Lichen diversity for environmental stress study: Application of index of atmospheric purity (IAP) and mapping around a paper mill in Barak Valley, Assam, northeast India. *Trop Ecol* **54**, 355-64.
- Deletraz G. (2002) Géographie des risques environnementaux liés aux transports routiers en montagne. Incidences des émissions d'oxydes d'azote en vallées d'Aspe et de Bariatou (Pyrénées) *These de Doctorat : Université de Pau et des Pays de l'Adour*
- Delmas R., Mégie G. and Peuch;V.H. (2005) *Physique et chimie de l'atmosphère*. Belin, Paris.
- Demiray A.D., Yolcubal I., Akyol N.H. and Çobanğlu G. (2012) Biomonitoring of airborne metals using the Lichen *Xanthoria parietina* in Kocaeli Province, Turkey. *Ecological Indicators* **18**, 632-43. .
- Djellil S. (1989) Étude de la flore lichénique du massif forestier d'Akfadou et Béni Ghorbi, *These de Magister :Université de Tizi-Ouzou* 108 p
- Doucet F.J. and Carignan J. (2001) Atmospheric Pb isotopic composition and trace metal concentrationas revealed by epiphytic lichens: an investigation related to two altitudinal sections in easter France. *Atmospheric Environment* **35**, 3681-90.
- Dron J., Austruy A., Agnan Y., Ratier A. and Chamaret P. (2016) Utilisation de la biosurveillance lichénique sur la zone-industriale-portuaire de Fos-sur-Mer : retour sur trois ans de suivi à l'échelle d'un territoire intercommunal. *Pollution atmosphérique* **228**, 1-14.
- Duffus J.H. (2002) « Heavy metals » a meaningless term? *Pure and Applied Chemistry* **74**, 793-807.
- Dzubaj A., Backor M., Tomko J., Peli E. and Tuba Z. (2008) Tolerance of the lichen *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr. to metal stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **70**, 319–26.
- Elichegaray C. (2008) *La pollution de l'air : Sources, effets, prévention*. DUNOD.
- Elichegaray C., Bouallala S., Maitre A. and Ba M. (2010) État et évolution de la pollution atmosphérique. *Revue Française d'Allergologie* **50**, 381–93.

- Ellis C.J. (2012) Lichen epiphyte diversity: a species, community and trait-based review. *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.* **14**, 131-52.
- Ellis K.M. and Smith J.N. (1987) Dynamic-model for radionuclide uptake in lichen. *Journal of Environmental Radioactivity* **5**, 185-208.
- Esimone C.O. and Adikwu M.U. (1999) Antimicrobial activity and cytotoxicity *Ramalina farinacea*. *Journal of Fitoterapia* **70**, 428-31.
- Fahselt D. (1994) Secondary biochemistry of lichens. . *Symbiosis* **16**, 117-65.
- Fergusson J.E. (1990) *The heavy elements: chemistry, environmental impact and health effects*. Oxford, Pergamon Press.
- Fernández J.A., Rey A. and Carballeira A. (2000) An extended study of heavy metal deposition in Galicia (NW Spain) based on moss analysis. *The Science of the Total Environment* **254**, 31-44.
- Feurerer T. and Hawksworth D.L. (2007) Biodiversity of lichens, including a world-wide analysis of checklist data based on Takhtajan's floristic regions. *Biodivers. Conserv* **16**, 85– 98.
- Fрати L. and Brunialti G. (2006) Long-term biomonitoring with lichens: comparing data from different sampling procedures. *Environmental Monitoring and Assessment* **119**, 391–404.
- Freitas M.C., Reis M.A., Alves L.C. and Wolterbeek H.T. (1999) Distribution in Portugal of some pollutants in the lichen *Parmelia sulcata*. *Environmental pollution* **106**, 229-35.
- Friedl T. and Büdel. B. (2008) Photobionts. In T. Nash, III (Ed.), *Lichen Biology Cambridge: Cambridge University Press*, 9-26.
- Gachkar L., Yadegari D., Bagher Rezaei M., Taghizadeh M., Astaneh S.A. and Rasooli I. (2007) Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry* **102**, 898-904.
- Garrec J.P. and Livertoux M.H. (1997) Bioindication végétale de l'ozone dans l'agglomération nancéenne durant l'été 1996. *Pollution atmosphérique*, 78-87.
- Garrec J.P. and Van Haluwyn C. (2002) *Bio surveillance végétale de la qualité de l'air. Concepts, méthodes et applications*. Ed : Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- Garty J. (2001) Biomonitoring atmospheric heavy metals with lichens : theory and application. *Critical Reviews in Plants Sciences* **20**, 309-71.
- Garty J., Cohen Y. and Kloog N. (1998) Airborne elements cell membranes, and chlorophyll in transplanted lichens. *J. Environ. Quai* **27**, 973-9.
- Garty J., Karary Y. and Harel J. (1993) The impact of air pollution on the integrity of cell membranes and chlorophyll in the lichen *Ramalina duriaei* (De Not.) Bagl. transplanted to industrial sites in Israel. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **24**, 455-60.
- Garty J., Steinberger Y. and Harel Y. (1996) Spatial and temporal changes in the concentration of K, Na, Mg and Ca in epilithic and in decomposing detached thalli of the lichen *Ramalina maciformis* and its potential role in the cycling of these elements in the Negev Desert. *Environmental and Experimental Botany* **36**, 83-97.
- Garty J., Tomer S., Levin T. and Lehr H. (2003) Lichens as biomonitors around a coal-fired power station in Israel, . *Environmental Research* **91**, 186-98.
- Gavin J., Nicollier G. and Tabacchi R. (1978) Composants volatils de la mousse de chêne (*Evernia prunastri* (L.) Ach.) 3e communication. *Helv. Chim. Acta* **61**, 352-7.

- Geiser L.H. and Neitlich P.N. (2007) Air pollution and climate gradients in western Oregon and Washington indicated by epiphytic macrolichens. *Environmental pollution* **145**, 203–18.
- Gerdol R., Marchesini R., Iacuminb P. and Brancaleoni L. (2014) Monitoring temporal trends of air pollution in an urban area using mosses and lichens as biomonitors. *Chemosphere* **108**, 388–95.
- Giordani P. (2007) Is the diversity of epiphytic lichens a reliable indicator of air pollution? A case study from Italy. *Environmental Pollution* **46**, 317–23.
- Giordani P. (2006) Variables influencing the distribution of epiphytic lichens in heterogeneous areas: a case study for Liguria, Italy. *Journal of Vegetation Science* **17**, 195–206.
- Giordani P., Brunialti G. and Alleleo D. (2002) Effects of atmospheric pollution on lichen biodiversity (LB) in a Mediterranean region (Liguria, NW-Italy). *Environmental pollution* **118**, 53–64.
- Giordani P. and Incerti G. (2008) The influence of climate on the distribution of lichens: a case study in a borderline area (Liguria, NW Italy). *Plant Ecology* **195**, 257–72.
- Giordano S., Adamo P., Sorbo S. and Vingiani S. (2005) Atmospheric trace metal pollution in the Naples urban area based on results from moss and lichen bags. *Environmental Pollution* **136**, 431–42.
- Godinho R.M., Verburg T.G., Freitas M.C. and Wolterbeek H.T. (2009) Accumulation of trace elements in the peripheral and central parts of two species of epiphytic lichens transplanted to a polluted site in Portugal. *Environmental Pollution* **157**, 102–9.
- Gombert S., Asta J. and Seaward M.R.D. (2004) Assessment of lichen diversity by index of atmospheric purity (IAP), index of human impact (IHI) and other environmental factors in an urban area (Grenoble, southeast France). *The Science of the Total Environment* **324** **1**, 183–99.
- Gombert S., Galsomiès L. and Rausch de Traubenberg C. (2005) Pollution atmosphérique par les métaux : biosurveillance des retombées. *EDP Sciences*, 118
- Grantz D.A., Garner J.H.B. and Johnson D.W. (2003) Ecological effects of particulate matter. *Environment International* **29**, 213–39.
- Guestem A., Seguin E., Paris M. and Orecchioni A.M. (2001) *Le préparateur en pharmacie. Dossier 2, Botanique, Pharmacognosie, phytothérapie*. (Ed.) Tec. et Doc, Paris.
- Hale M. (1974) *The Biology of Lichens*. London: Edward Arnold.
- Hale M. (1983) *The Biology of Lichens*. London: Edward Arnold.
- Hamada N. (1983) The effect of temperature on lichen substances in *Ramalina subbreviscula* (lichens). *Bot. Mag* **96**, 121–6.
- Hans M.J. (1989) *Guide des fougères, mousses et lichens d'Europe*. Ed. Delachaux et Niestlé, Paris.
- Harmens H., Norris D.A., Steinnes E., Kubin E., Piispanen J., Alber R., et al. (2010) Mosses as biomonitors of atmospheric heavy metal deposition: Spatial patterns and temporal trends in Europe. *Environmental Pollution* **158**, 3144–56.
- Hawksworth D.L. and Rose F. (1970) Qualitative scale for estimating sulphur dioxide air pollution in England and Wales using epiphytic lichens. *Nature* **227**, 5–14.
- Hawksworth D.L. and Rose F. (1976) *Lichens as pollution monitors*. Edward Arnold, Londres.

- Henderson S. (1999) Lichen dyes. An historical perspective. *Lees Museums and Galleries Review* **2**, 30–4.
- Hiiffner, Lomsky B., Hynek V., Hallgren J.E., Batie F. and Pfanz H. (2001) Air pollution and lichen physiology. Physiological responses of different lichens in a transplanted experiment following an SO₂ -gradient. *Water, Air, and Soil Pollution* **131**, 185-201.
- Hiserodt R.D., Swijter D.F.H. and Mussinan C.J. (2000) Identification of atranorin and related potential allergens in oakmoss absolute by highperformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry using negative ion atmospheric pressure chemical ionization. *Journal of Chromatography A* **888**, 103–11.
- Honegger R. (2008) Mycobionts. In: *T. Nash, III (Ed.), Lichen Biology* Cambridge: Cambridge University Press, pp. 27-39.
- Honegger R. (2012) The symbiotic phenotype of lichen-forming Ascomycetes and their endo- and epibionts In: *Fungal Associations ed. (Berlin, Heidelberg: Springer)*, pp. 287–339.
- Horvat M., Jeran Z., Špiric Z., Jacimovic R. and Miklavcic V. (2000) Mercury and other elements in lichens near the INA Naftaplin gas treatment plant, Molve, Croatia. *Environmental Monitoring* **2**, 139–44.
- Jahns H.M. (2007) *Guide Des Fougères, Mousses et Lichens d'Europe*. Delachaux et Niestlé SA, Paris.
- Jayalal U., , Oh S.O., Park J.S., Sung J.H., Kim S.H. and Hur J.S. (2015) Evaluation of air quality using lichens in three different types of forest in Korea. *For Sci Technol.* **12**,1-8.
- Joulain D. and Tabacchi R. (2009) Lichen extracts as raw materials in perfumery part 1: oakmoss. *Flavour and Fragrance Journal* **24**, 49-61.
- Käffer M., Koch N.M., Martins S.M.A. and Vargas V.M.F. (2016) Lichen community versus host tree bark texture in an urban environment in Southern Brazil. *Iheringia Ser. Bot* **71** 49–54.
- Kahriman N., Çelik G., Yayli B., Yazici K., Karaoglu S.A. and Yayli N. (2012) Volatile Constituents and Antimicrobial Activity of the Essential Oils from *Cladonia rangiformis* Hoffm. and *Cladonia furcata* (Huds.) Schrad. *ASIAN JOURNAL OF CHEMISTRY* **24**, 1442-4.
- Kahriman N., Yazici K., Arslan T., Aslan A., Karaoglu S.A. and Yayli N. (2011) Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils from *Evernia prunastri* (L.) Ach. and *Evernia divaricata* (L.) Ach. *ASIAN JOURNAL OF CHEMISTRY* **23**, 1937-9.
- Kar S., Samal A.C., Maity J.P. and Santra S.C. (2014.) Diversity of epiphytic lichens and their role in sequestration of atmospheric metals. *Int J Environ Sci Technol* **11**, 899-908.
- Karagöz A., Dođruöz N., Zeybek Z. and Aslan A. (2009) Antibacterial activity of some lichen extracts. *Journal of Medicinal Plants Research* **3**, 1034-9.
- Khastini R.O., Sari I.J., Herysca Y.H. and Sulasanah S. (2019) Lichen diversity as indicators for monitoring ecosystem health in Rawa Danau Nature Reserve, Banten, Indonesia. *Biodiversitas* **20**, 489-96.
- Kimbaris A.C., Siatis N.G., Daferera D.J., Tarantilis P.A., Pappas C.S. and Polissiou M.G. (2006) Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Alliumsativum*). *Ultrason Sonochem* **13**, 54-60.
- Kipopoulou A.M., Manoli E. and Samara C. (1999) Bioconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetables grown in an industrial area. *Environmental Pollution* **106**, 369-80.

- Kirschbaum U. and Volkmar W. (1997) *Les lichens bio-indicateurs. Les reconnaître, évaluer la qualité de l'air*. Eugen Ulmer.
- Klimek B., Tarasek A. and Hajduk J. (2015) Trace Element Concentrations in Lichens Collected in the Beskidy Mountains, the Outer Western Carpathians. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* **94**, 532-6.
- Koffi B. (2002) Que sait-on de la pollution photochimique urbaine ? *La Documentation Française*, 101.
- Kosanic M.M., Branislav R.R. and Tatjana P.S. (2011) Antioxidant, antimicrobial and anticancer activities of three Parmelia species,. *J. Sci. Food Agric.* **92**, 1909-16.
- Kricke R. (2002) Measuring Bark pH. In: Nimis P.L., Scheidegger C., Wolseley P.A. (eds) *Monitoring with Lichens — Monitoring Lichens*. NATO Science Series (Series IV: Earth and Environmental Sciences), vol 7. Springer, Dordrecht.
- Kularatne K.I.A. and de Freitas C.R. (2013) Epiphytic lichens as biomonitors of airborne heavy metal pollution. *Environmental and Experimental Botany* **88**, 24–32.
- Kurnaz K. and Çobanoğlu G. (2017) Biomonitoring of air quality in istanbul metropolitan territory with epiphytic lichen physcia adscendens (FR.) H. Olivier. *Fresenius Environmental Bulletin* **26**, 7296-308.
- Lagadic L., Caquet T. and Amiard J.C. (1997) Biomarqueurs en écotoxicologie : principes and éfinitions. In: *Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.C., Ramade, F. (Eds.), Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux*. Masson, Londres, Paris, New York, pp. 1-9.
- Larsen R.S., Bell J.N.B., James P.W., Chimonides P.J., Rumsey F.J., Tremper A. and Purvis O.W. (2006) Lichen and bryophyte distribution on oak in London in relation to air pollution and bark acidity. *Environmental Pollution* **146**, 332–40.
- Larson D.W. (1978) Patterns of lichen photosynthesis and respiration following prolonged frozen storage. *Canadian Journal of Botany* **56**, 2119–23.
- LeBlanc S., Fabius C. and Jacques D.S. (1970) Relation between industrialization and the distribution and growth of epiphytic lichens and mosses in Montrea. *Can. J. Bot* **48**, 1485-96.
- Lee K., Do Hur S., Hou S., Hong S., Qin X., Ren J., et al. (2008) Atmospheric pollution for trace elements in the remote high-altitude atmosphere in central Asia as recorded in snow from Mt. Qomolangma (Everest) of the Himalayas. *Science of the Total Environment* **404**, 171-81.
- Legaz M.E., Avalos A., De torres M., Escribana M.I., Gonzalez A., Martin-Falquina A., et al. (1986) Annual variations in arginine metabolism and phenolic content of Evernia prunastri. *Environ. Exp. Bot.* **26**, 385-96.
- Ljöop E., Pinho P., Matos P., Pereira M.J. and Branquinho C. (2012) The use of lichen functional groups as indicators of air quality in a Mediterranean urban environment. *Ecological Indicators* **13** 215-21.
- Lipnicki L.I. (2015) The role of symbiosis in the transition of some eukaryotes from aquatic to terrestrial environments. *Symbiosis* **65**, 39–53.
- Loppi S., Frati L., Paoli L., Bigagli V., Rossetti C., Bruscoli C. and Corsini A. (2004) Biodiversity of epiphytic lichens and heavy metals contents of Flavoparmelia caperata thalli as indicators of temporal variations of air pollution in the town of Montecatini Terme (central Italy),. *Science of the Total Environment* **326**, 113-22.

- Loppi S., Giordani P., Brunialti G., Isocrono D. and Piervittori R. (2002) Identifying deviations from naturalness of lichen diversity for bioindication purposes. In: Nimis P.L., Scheidegger C., Wolseley, P.A., editors. *Monitoring with lichens—Monitoring lichens. The Netherlands* Kluwer Academic Publishing.
- Loppi S., Nelli L., Ancora S. and Bargagli R. (1997) Passive monitoring of trace elements by means of tree leaves, epiphytic lichens and bark substrate. *Environmental Monitoring and Assessment* **45**, 81-8.
- Loppi S. and Pirintsos S. (2003) Epiphytic lichens as sentinels for heavy metal pollution at forest ecosystems (central Italy). *Environmental Pollution* **121**, 327–32.
- Lucaccioni F., Deneyer R. and Tilquin B. (1993) Pour une analyse des huiles essentielles. *Chimie nouvelle*. **11**, 1253-7.
- Maatoug M., Medkour K., Ait hammou M. and Ayad N. (2010) Cartographie de la pollution atmosphérique par le plomb d'origine routière à l'aide de la transplantation d'un lichen bioaccumulateur *Xanthoria parietina* dans la ville de Tiaret (Algérie). *Pollution atmosphérique* **205**, 93-101.
- Maizi N., Alioua A., Tahar A., Semadi F. and Fadel D. ((2010) Utilisation des végétaux inférieurs comme bio indicateurs de la pollution plombique d'origine automobile dans la région de Annaba (Algérie). *J. Mater. Environ. Sci* **1**, 251-66
- Markert B.A., Breure A.M. and Zechmeister H.G. (2003) *Bioindicators and biomonitors*. Elsevier.
- Matos P., Vieira J., Rocha B., Branquinho C. and Pinho P. (2019) Modeling the provision of air-quality regulation ecosystem service provided by urban green spaces using lichens as ecological indicators. *Sci. Total Environ* **665**, 521–30.
- Miquel G. (2001) Rapport des effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. *Rapport Assemblée Nationale, Sénat. Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques*, 363 p.
- Mirando M. and Fahselt D. (1978) The effect of thallus age and drying procedure on extractable lichen substances. *Can. J. Bot* **56**, 1499-504.
- Munzi S., Correia O., Silva P., Lopes N., Freitas C., Branquinho C. and Pinho P. (2014) Lichens as ecological indicators in urban areas: beyond the effects of pollutants. *J. Appl. Ecol.* **51** 1750–7.
- Nash I. and Thomas H. (2008) *Lichen biology*. Cambridge University Press.
- Nicollier G., Tabacchi R., Gavin J., Breton J.L. and Gonzalez A.G. (1979) Triterpènes de la mousse de chêne (*Evernia prunastri* (L.) Ach.) 5e communication. *Chim. Acta* **62**, 807-10.
- Nimis P.L., Lazzarin G., Lazzarin A. and Skert N. (2000) Biomonitoring of trace elements with lichens in Veneto (NE Italy). *The Science of the Total Environment* **255**, 97-111.
- Nriagu J.O. (1978) *The biogeochemistry of lead in the environment*. Elsevier, Amsterdam.
- Nriagu J.O. (1979) Global inventory of natural and anthropogenic emissions of trace metals to the atmosphere. *Nature* **279**, 404-11.
- Nriagu J.O. (1989) A global assessment of natural sources of atmospheric trace metals. *Nature* **338**, 47-9.
- Nyarko B.J.B., Adomako D., Serfor-Armah Y., Dampare S.B., Adotey D. and et Akaho E.H.K. (2006) Biomonitoring of atmospheric trace element deposition around an industrial town in Ghana. *Radiation Physics and Chemistry* **75**, 954-8.

- Ötvös E., Pazmandi T. and Tuba Z. (2003) First national survey of atmospheric heavy metal deposition in Hungary by the analysis of mosses. *The Science of the Total Environment* **309**, 151–60.
- OUALI F., Elabidil A., Mmouhir L., Fekhaoui M. and Serghini A. (2014) Utilisation des lichens comme bio-indicateurs de la pollution atmosphérique par le plomb, cadmium et zinc de la région de Rabat-Sale-Zemmour-Zaër (Maroc). *Afrique SCIENCE* **10**, 89 - 106.
- Ozenda P. (2000) *les végétaux, organisation et diversité biologique*. Ed. Dunod, Paris.
- Ozenda P. and Clauzade G. (1970) *Les lichens étude biologique et flore illustrée* MASSON et Cie.
- Pacyna J. and Pacyna E.G. (2001) An assesment of global and regional emissions of trace metals to the atmosphere from anthropogenic source worldwide. *Environmental reviews* **9**, 269-98. .
- Pacyna J.M. (1986) Atmospheric trace elements from natural and anthropogenic sources. In : Nriagu, J.O. and Davidson, C.I. (Eds) *Toxic metals in the atmosphere*, John Wiley and sons, New York,, 33-52.
- Paoli L., Vannini A., Fačkovcová Z., Guarnieri M., Bačkor M. and Loppi S. (2018) One year of transplant: is it enough for lichens to reflect the new atmospheric conditions? *Ecological Indicators* **88**, 495–502.
- Paoli L., Winkler A., Guttová A., Sagnotti L., Grassi A., Lackovičová A., et al. (2016) Magnetic properties and element concentrations in lichens exposed to airborne pollutants released during cement production. *Environ. Sci. Pollut. R.*, 1–18.
- Pearce C. (1997) Biologically active fungal metabolites. *Advances in Applied Microbiology* **44**, 1–80.
- Pinho P., Augusto S., Branquinho C., Bio A., Pereira M.J., Soares A. and Catarino F. (2004) Mapping lichen diversity as a first step for air quality assessment. *Journal of Atmospheric Chemistry* **49**, 377–89.
- Pinho P., Correia O., Lecoq M., Munzi S., Vasconcelos S., Gonçalves P., et al. (2016) Evaluating green infrastructure in urban environments using a multi-taxa and functional diversity approach. *Environ. Res* **147**, 601–10.
- Port R.K., Käffer M.I. and Schmitt J.L. (2018) Morphophysiological variation and metal concentration in the thallus of *Parmotrema tinctorum* (Despr. ex Nyl.) Hale between urban and forest areas in the subtropical region of Brazil. *Environ. Sci. Pollut* **25**, 33667–77.
- Purvis O.W., Chimonides P.D.J., Jeffries T.E., Jones G.C., Rusu A.M. and Read H. (2007) Multi-element composition of historical lichen collections and bark samples, indicators of changing atmospheric conditions. . *Atmospheric Environment* **41**, 72-80.
- Rahali M. (2003) Etude de la pollution plombique et globale dans la région d'Alger, en utilisant les lichens comme indicateur biologiques, *These de Doctorat : Université de Institut National d'Agronomie (Alger)* 302 p
- Rai R. and Agrawal M. (2008) Evaluation of physiological and biochemical responses of two rice (*Oryza sativa* L.) cultivars to ambient air pollution using open top chambers at a rural site in India. *Science of the Total Environment* **407**, 679-91.
- Ramade F. (2007) *Introduction à l'écotoxicologie : fondements et applications*. Tec & Doc Lavoisier.
- Rankovic B., Rankovic D., Kosanic M. and Maric D. (2010) Antioxidant and antimicrobial properties of the lichens *Anaptychia ciliaris*, *Nephroma parile*, *Ochrolechia tartarea* and *Parmelia centrifuga*. *Cent. Eur. J. Biol* **5**, 649-55.

- Rasooli I., Fakoor M.H., Yadegarinia D., Gachkar L., Allameh A. and and Rezaei M.B. (2008) Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils. *Food Chemistry* **135**-140.
- Ratier A., Dron J., Revenko G., Austruy A., Dauphin C.E., Chaspoul F. and Wafo E. (2018) Characterization of atmospheric emission sources in lichen from metal and organic contaminant patterns. *Environ. Sci. Pollut.R* **25**, 8364–79.
- Rebbas K., Boutabia L., Touazi Y., Gharzouli R., Djellouli Y. and Alatou D. (2011) Inventaire des lichens du Parc national de Gouraya (Béjaïa, Algérie). *Phytothérapie* **9**, 225-33.
- Reichl F.X. and Perraud R. (2010) *Guide pratique de toxicologie*. De Boeck.
- Reis M.A., Alves L.C., Freitas M.C., van Os B. and et Wolterbeek H.T. (1999) Lichens (*Parmelia sulcata*) time response model to environmental elemental availability. *The Science of the Total Environment* **232**, 105-15.
- Rhayour K. (2002) Etude du Mécanisme de l'Action Bactéricide des Huiles Essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*, *These de Doctorat : Université de Sidi Mohamed Ben Abdellah Fès, Maroc* 170 p
- Richardson D.H.S. (1988) Medicinal and other economic aspects of lichens. *CRC Handbook of Lichenology* **3**, 93–108.
- Richardson D.H.S. (2002) Reflections on lichenology: achievements over the last 40 years and challenges for the future. *Can. J. Bot* **80**, 101–13.
- Richardson D.H.S. and Nieboe E. (1981) Lichens and pollution monitoring. *Endeavour* **5**, 127–33.
- Rizzio E. and Bergamaschi L. (2001) Trace elements determination in lichens and in the airborne particulate matter for the evaluation of the atmospheric pollution in a region of northern Italy. *Environment International* **26**, 543–9.
- Rosman K., Chisholm W., Boutron C., Candelone J. and Patterson C. (1994) Anthropogenic lead isotopes in Antarctica. *Geophysical Research Letters* **21**, 669-2672.
- Rouabhi A. (2014) Implications des changements climatiques dans l'agriculture et le développement durable : Cas des hautes plaines sétifiennes, *These de Doctorat : Université de Ferhat Abbas Sétif* **1** p
- Roux C., Jean-Pierre G., Michel B., Grégory A. and Gilles D. (2018) L'Association française de Lichénologie
- Rowe J.G., Saez M.T. and Garcia. (1989) Contribution a l'etude de l'activite antibactérienne de quelques lichens du sud de l'Espagne. *Pharmaceutique française* **47**, 89-94.
- Rühling A. (1994) *Atmospheric heavy metal deposition in Europe, estimations based on moss analysis*. Nord 1994 9.
- Ruhling A. and Tyler G. (2004) Changes in the atmospheric deposition of minor and rare elements between 1975 and 2000 in south Sweden, as measured by moss analysis. *Environnement pollution* **131**, 417-23.
- Russell F.A., Gallon C., Hibdon S., Kuspa Z.E. and Laporte L.F. (2010) Declining-but persistent-atmospheric contamination in central California from the resuspension of historic leaded gasoline emissions as recorded in the lace lichen (*Ramalina menziesii* Taylor) from 1892 to 2006. *Environmental Science & Technology* **44**, 5613–8.

- Rusu A.M., Jones G.C., Chimonides P.D.J. and Purvis O.W. (2006) Biomonitoring using the lichen *Hypogymnia physodes* and bark samples near Zlatna, Romania immediately following closure of a copper ore-processing plant. *Environmental pollution* **143**, 81-8.
- Rzepka M.A. and Cuny D. (2011) Recherches préliminaires sur la mise en place d'une biosurveillance végétale de la pollution atmosphérique en zone industrielle complexe : applications du ray-grass dans la zone industrialoportuaire de Dunkerque. *Acta Botanica Gallica* **158**, 387-400.
- Salo H., Bućko S.B., Vaahtovuori E., Limo J., Mäkinen J. and Pesonen L.J. (2012) Biomonitoring of air pollution in SW Finland by magnetic and chemical measurements of moss bags and lichens. *Journal of Geochemical Exploration* **115**, 69–81.
- Salzer U.J. (1977) The analysis of essential oils and extracts (oleoresins) from seasonings-critical review. *C.R.C Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition* **9**, 345-73.
- Santiago K.A.A., Sangvichien E., Boonpragob K. and dela Cruz T.E.E. (2013) Secondary metabolic profiling and antibacterial activities of different species of *Usnea* collected in Northern Philippines. *Mycosphere* **4**, 267–80.
- Santoyo S., Cavero S., Jaime L., Ibanez E., Senorans F.J. and Reglero G. (2005) Chemical composition activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *Journal of Food Protection* **68**, 790-5.
- Sarmento S., Wolterbeek H.T., Verburg T.G. and Freitas M.C. (2008) Correlating element atmospheric deposition and cancer mortality in Portugal: data handling and preliminary results. *Environmental Pollution* **151**, 314-51.
- Sarmoum M., Djebbar R. and Leatrech K. (2014) Bioaccumulation de trois métaux lourds (Pb, Zn et Cd) par le lichen, *Xanthoria parietina*, dans la région Algéroise. *Ecologie-Environnement* **10**.
- Sarret G., Manceau A., Cuny D., van Haluwyn C., Deruelle S., Hazemann J.L., et al. (1998) Mechanisms of lichen resistance to metallic pollution. *Environmental Science & Technology* **32**, 3325-30.
- Scerbo R., Possenti L., Lampugnani L., Ristori T., Barale R. and Barghigiani C. (1999) Lichen (*Xanthoria parietina*) biomonitoring of trace element contamination and air quality assessment in Livorno Province (Tuscany, Italy). *The Science of the Total Environment*, **241**, 91-106.
- Scerbo R., Ristori T., Possenti L., Lampugnani L., Barale R. and Barghigiani C. (2002) Lichen (*Xanthoria parietina*) biomonitoring of trace element contamination and air quality assessment in Pisa Province (Tuscany, Italy),. *The Science of the Total Environment* **286**, 27-40.
- Scheidegger C. and Clerc P. (2002) *Liste Rouge des espèces menacées en Suisse: Lichens épiphytes et terricoles*.
- Semadi A. and Tahar A. (1995) Une méthode biologique pour la détection de la pollution globale dans la région d'Annaba (Algérie). *Pollut Atmos*, 50-8.
- Sett R. and Kundu M. (2016) Epiphytic lichens: Their usefulness as bio-indicators of air pollution. *Dannish J Res Environ Stud* **3**, 17-24.
- Seu-Salerno M. and Blakeway J. (1987) La mousse de chêne, une base de la parfumerie. *Pour la Science*, 82-92.
- Shukla V., Joshi G.P. and Rawat M.S.M. (2010) Lichens as a potential natural source of bioactive compounds: a review. *Phytochem Rev* **9**, 303–14.
- Silva, Jose Oliveira D A, Joaquim Efigenio Maileite, Marçal de Queiroz Paulo and Lauroz Xavier Filho. (1986) Antimicrobial activity of Brazilian lichens. *Biological Society Broteriana* **59** 87-96.

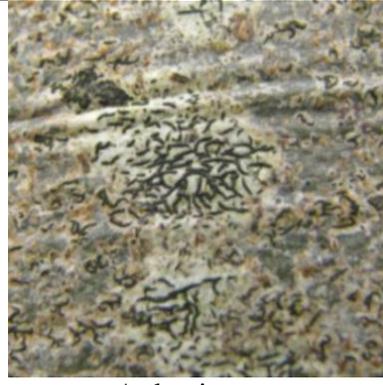
- Silva D.T., Meirelles S.T. and Moraes R.M. (2012) Relationship between ozone, meteorological conditions, gas exchange and leaf injury in *Nicotiana tabacum* Bel-W3 in a sub-tropical region. *Atmospheric Environment* **60**, 211-6.
- Simonetti A., Garipey C. and Carignan J. (2003) Tracing sources of atmospheric pollution in Western Canada using the Pb isotopic composition and heavy metal abundances of epiphytic lichens. *Atmospheric Environment* **37**, 2853-65.
- Sloof J.E. (1995) As quantitative biomonitors for atmospheric trace-element deposition, using transplants. *Atmospheric Environment* **29**, 11-20.
- Sloof J.E. and Wolterbeek B.T. (1993) Substrate influence on epiphytic lichens. *Environmental Monitoring and Assessment* **25**, 225-34.
- Sorbo S., Aprile G., Strumia S., Castaldo Cobianchi R., Leone A. and Basile A. (2008) Trace element accumulation in *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf exposed in Italy's so called Triangle of Death. *Science of the Total Environment* **407**, 647-54.
- Spiro B., Weiss D.J., Purvis O.W., Mikhailova I., Williamson B.J., Coles B.J. and Udachin V. (2004) Lead isotopes in lichen transplants around a Cu smelter in Russia determined by MCICP- MS reveal transient records of multiple sources. *Environmental Science & Technology* **38**, 6522-8.
- Sportisse B. (2008) *pollution atmosphérique. Des processus à la modélisation*, . collection « Ingénierie et développement durable ».
- Stepanenko L.S., Krivoshekova O. and Mishchenko N.P. (1985) Chemical variation of *Asahiena chrysantha*. *Phytochemistry* **24**, 354-5.
- Stocker W., Elix J.A. and Grube M. (2004) Secondary chemistry of lichen-forming fungi: chemosyndromic variation and DNA-analyses of cultures and chemotypes in the *Ramalina farinacea* complex. *Bryologist* **107**, 152-62.
- Stoll M. and Scherre W. (1937) Sur l'essence concrète de la mousse de chêne. *Comm. 17e Congr. Chimie Ind. Paris* **17**, 205-12.
- Sujetovienė G. (2010) Road traffic pollution effects on epiphytic lichens. *Ekologija* **56**, 64-71.
- Svoboda D. (2007) Evaluation of the European method for mapping lichen diversity (LDV) as an indicator of environmental stress in the Czech Republic. *Biologia* **62**, 424-31.
- Szczepaniak K. and Biziuk M. (2003) Aspects of the biomonitoring studies using mosses and lichens as indicators of metal pollution. *Environmental Research* **93**, 221-30.
- Takahashi T. and Miyajima Y. (2010) Effects of roads on alpine and subalpine plant species distribution along an altitudinal gradient on Mount Norikura, central, Japan. *Journal of Plant Research* **123**, 741-9.
- Tievant P. (2001) *Guide des lichens_350 espèces de lichens d'Europe*. Delachaux et Niestlé, Paris,.
- Tiwari P., Himanshu R., Upreti R., Trivedi D.K. and Shukla S. (2011) Assessment of antifungal activity of some Himalayan foliose lichens against plant pathogenic fungi. *Am J Plant Sci* **2**, 841-6.
- Tranchant J. (1964) *Manuel de chromatographie en phase gazeuse*. Masson et Cie, Paris.
- Vallero D. (2014) *Fundamentals of air pollution*. Elsevier.
- Van Haluwyn C., Asta J. and Gaveriaux J.P. (2009) *Guide des lichens de France, lichens des arbres*. BELIN (Ed.)

- Van Haluwyn C., Asta J. and Gaveriaux J.P. (2012) *Guide des Lichens de France: Lichens des sols*. Belin, Paris.
- Van Haluwyn C., Cuny D. and garrec J.P. (2011) Introduction générale Définitions, concepts et enjeux généraux de la biosurveillance de la qualité de l'air. *Pollution atmosphérique*, 7-12.
- Van Haluwyn C. and Lerond M. (1986) Les lichens et la qualité de l'air. Evaluation méthodologique et limites. p. 213 p. Rapport final du Ministère de l'Environnement (S.R.E.T.I.E).
- Van Haluwyn C. and Lerond M. (1993) *Guide des lichens*. Ed. Lechevalier, Paris.
- Vartia K.O. (1949) Antibiotics in lichens. I. *Annals of medical Experimental Biology Fenniae* **27**, 46.
- Vartia K.O. (1950) On antibiotic effects of lichens and lichen substances, Antibiotics in lichen .II. *Annals of medical Experimental Biology Fenniae* **28**, 7-19.
- Veschambre S. (2006) Caractérisation et quantification des Eléments Traces Métalliques dans les dépôts et les particules atmosphériques de la vallée d'Aspe - Mise en place d'indicateurs de la Qualité de l'Air, *These de Doctorat : Université de Pau et des Pays de l'Adour French*.
- Veschambre S., Moldovan M., Amouroux D., Miguel J., Ulecia S., Benech B., et al. (2008) Apports atmosphériques des éléments traces métalliques dans la vallée d'Aspe et le tunnel niveau de contamination et évaluation des sources d'émissions Import of atmospheric trace metal elements in the Aspe valley and Somport tunnel (Pyrénées Atlantiques). *Pollution Atmosphérique* **199**, 215–34.
- Vicente C. and Avalos A. (1986) Light mediates accumulation of lichen phenolics in the *Evernia prunastri* thallus. *Symbiosis* **1**, 251-8.
- Wainwright S.J. and Beckett P.J. (1975) Kinetic Studies on the Binding of Zinc Ions by the Lichen *Usnea florida* (L.) Web. *New Phytol* **75**, 91–8.
- Walther D., Ramelow G., Beck J., Young J., Callahan J. and Marcon M. (1990) Temporal changes in metal levels of the lichens *Parmotrema praesorediosum* and *Ramalina stenospora*, Southwest Louisiana. *Water Air and Soil* **53**, 189-200.
- Wolff E., Suttie E. and Peel D. (1999) Antarctic snow record of cadmium, copper, and zinc content during the twentieth century. *Atmospheric Environment* **33**, 1535-41.
- Wright D.A. and Welbourn P. (2002) Environmental toxicology. *Cambridge Environmental Chemistryseries 11. Cambridge University Press, Cambridge, 630 p.*
- Yemets O.A., Solhaug K.A. and Gauslaa Y. (2014) Spatial dispersal of airborne pollutants and their effects on growth and viability of lichen transplants along a rural highway in Norway. *Lichenologist* **46**, 809–23.
- Zhang Z.H., Chai Z.F., Mao X.Y. and Chen J.B. (2002) Biomonitoring trace element atmospheric deposition using lichens in China. *Environmental Pollution* **120**, 157-61.
- Zschau T., Getty S., Gries C., Ameron Y., Zambrano A. and Nash T.H. (2003) Historical and current atmospheric deposition to the epilithic lichen *Xanthoparmelia* in Maricopa County, Arizona. *Environmental Pollution* **125**, 21-30.

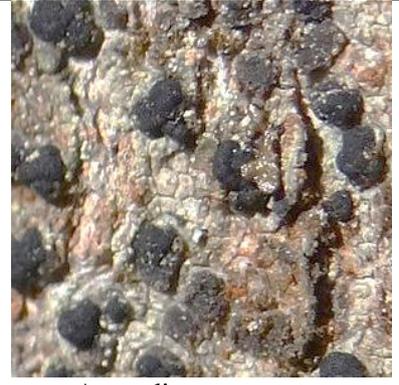
ANNEXE



Arthonia radiata



Arthonia atra



Amandinea punctata



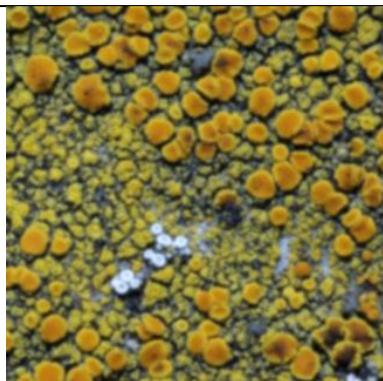
Diploicia canescens



Caloplaca cerina



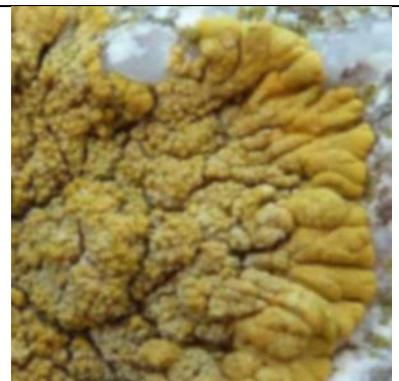
Caloplaca ferruginea



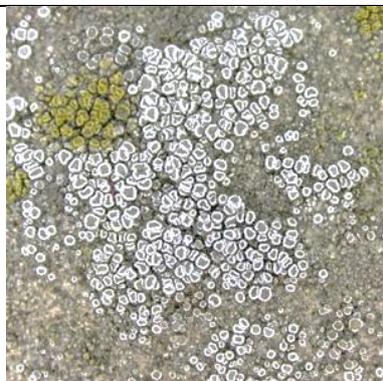
Caloplaca citrina



Caloplaca flavorubescens



Caloplaca ViridirufaMüll



Lecanora dispersa



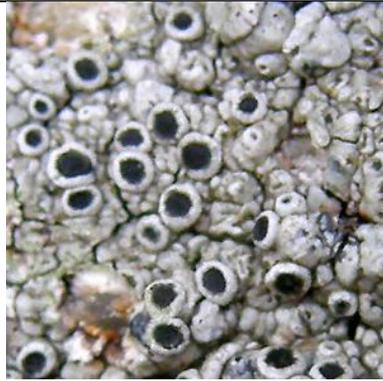
Lecanora badia



Lecanora muralis



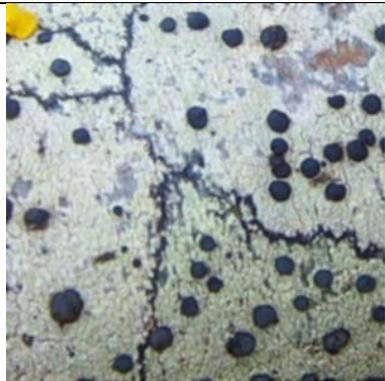
Lecanora conizaeoides



Lecanora gangaleoides



Lecanora chlorotera



Lecidella elaeochroma



Ochrolechia parella



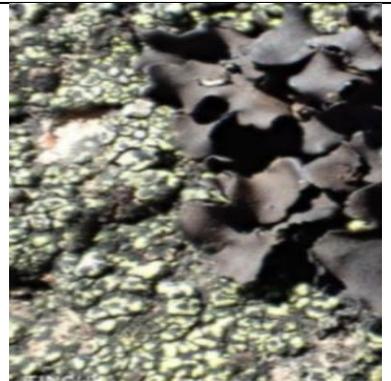
Ochrolechia arborea



Collema furfuraceum



Lobaria amplissima



Umbilicaria polyphylla



Arctoparmelia centrifuga



Flavoparmelia caperata



Parmelia saxatilis



parmelia pastillifera



parmelia sulcata



parmelia revoluta



parmotrema perlatum



hypogymnia physodes



punctelia subrudecta



physcia tenella



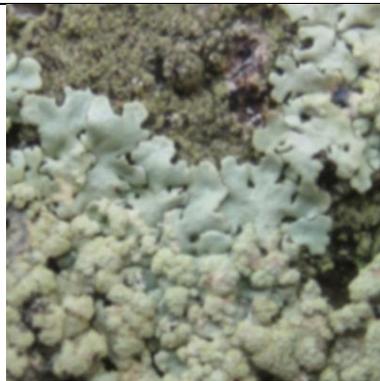
Physcia caesia



phaeophyscia sciastra



Physcia stellaris



physcia tribacioides



Physconia grisea



Xantoria parietina



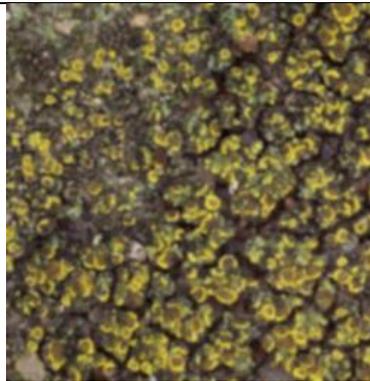
Xanthoria polycarpa



Xanthoria aureola



Hypocenomyce scalaris



Candelariella aurella



candelariella vitellina

Unified Journal of Environmental Science and Toxicology
Vol 1(1) pp. 001- 013 August, 2015.
<http://www.unifiedjournals.org/ujest>
Copyright © 2015 Unified Journals

Full Length Research Paper

Biomonitoring of heavy metals by lichens in Setif Area (East of Algeria)

C. Douibi¹, M. Ramdani^{1*}, A. Khelfi¹, R. Benharket¹, T. Lograda¹, P. Chalard^{2,3}

¹ Laboratory of Natural Resource Valorisation, SNV Faculty, Setif 1 University, 19000 Setif, Algeria.

² Clermont University, ENSCCF, Institute of Chemistry of Clermont- Ferrand , BP 10448 , F- 63000 Clermont - Ferrand, France.

³ CNRS, UMR 6296, ICCF, F-63171 Aubière, France.

Accepted 9 August, 2015

In the present work, lichen *Xanthoria parietina* is used as an accumulator of four heavy metals in the Setif region. The sampling of biological material is performed using a natural sensor, represented by a lichen species corticolous, *X. parietina*, from 16 stations located in proximities of 04 highways (RN 5, NR 9, RN 28 and RN 74). Samples were taken and four heavy metals (Cr, Zn, Cu and Ni) were selected for the analysis. The metal contents recorded in the various stations are very variable. The (Cr, Zn and Ni) are high in all the stations relative to normal levels; these stations are characterized by high traffic and / or an intense industrial activity. For the Cu contents, recorded for all stations, are low. These results show a tolerance of *X. parietina* the metal stress and therefore its efficiency to be used in biomonitoring programs of air quality.

Keywords: Heavy metals, Biomonitoring, Bioaccumulation, *Xanthoria parietina*, Setif, Algeria.

INTRODUCTION

Lichens are organisms that react to atmospheric pollution. These organizations are very popular in studies of Biomonitoring, bioaccumulation and measures concentrations of substances in organisms, resulting from pollution (Clement et al., 1995; Bargagli, 1998; Wyttenbach et al., 1990; Van Dobben et al., 2001; Bargagli et al., 2002; Bergamaschi et al., 2007; Maizi et al., 2010). They are very sensitive to emissions of gases, especially those containing heavy metals (Garty, 1993; Rao et al., 1997; Sarret et al., 1998). Lichens are among the bioindicators most commonly used (Ferry et al., 1973; Markert, 1993; Bargagli, 1998; Nash, 1988; Dzubaj et al., 2008).

The mineral nutrition of lichens depends on wet and dry deposition from the atmosphere; they are considered appropriate tools for monitoring the relative levels of air pollution; in fact, they are able to accumulate and store many airborne substances in the environment (Nieboer and Richardson, 1981; Baffi et al., 2002). The anthropogenic input of heavy metals in the atmosphere has increased over the last sixty years (Patterson and Settle, 1987; Nriagu and Pacyna, 1988). This contamination of

the atmosphere is due to industrial production and vehicular traffic (leaded petrol combustion). These metals are responsible for a dangerous and irreversible pollution and can have very harmful effects on human health.

Lichens are the most dominant organizations in the evaluation of air quality, by their slow growth are ideal for long-term studies of air pollution (Stamenkovic and Cvijan, 2003). Lichen *Xanthoria parietina* is common in urban areas and one of species the most commonly used in biomonitoring programs (Nimis et al., 2000, 2001). The value of lichens as bioaccumulators is largely attributed to their surface/volume. *X. parietina* has a large area of contact with air pollutants, so it is able to accumulate large amounts of heavy metals Sarret et al., 1998; Bargagli, 1998; Scerbo et al., 1999, 2000; Nayaka et al., 2003; Cuny et al., 2004). Similarly the lack of roots, waxy cuticle and stomata, facilitates the penetration of contaminants inside the thallus (Puckett et al., 1973; Sloof, 1995; Reis et al., 1999). This study was undertaken to evaluate the metal

*Corresponding Author's E-mail: ramdanimesaoud@yahoo.com
Tel: +213 658101010

contamination levels in the thalli of *X. parietina*, collected in the communes of Setif region (Algeria).

MATERIALS AND METHODS

Sample Collection

The foliose lichen *Xanthoria parietina*, widespread in the study area, and widely used in similar studies in several countries, has been selected as bioaccumulators. The samples were collected at 16 stations spread in Setif Province (Figure 1). Samples are collected, in avoiding the use of tools or containers may contaminate the sample, (steel tool or stainless steel containers whose walls contain pigments based on trace elements, for example PVC).

Each station consists of areas of maximum 100 m², located near high traffic roads (Table 1). The Setif province is characterized by a semi-arid continental climate, with hot, dry summers and severe winters. Rainfall is inadequate and irregular both in time and space. The geographical coordinates of each sampled stations were noted using a GPS.

Treatment of samples

Lichen samples were digested in a clean room at the laboratory, using a mixture HNO₃/HF/H₂O in Teflon vessels (Rusu, 2002; CERTU, 2004). The Solutionization of the metal elements and performed on the milled samples, from 10 ml of hydrofluoric acid (HF) at 40% and 3 ml of perchloric acid (HClO₄) at 70%. Evaporation takes place to dryness on a hotplate at 160°C. The residue is collected with 1 ml of nitric acid (HNO₃) at 65%. Then we added 10 ml of distilled water, and allowed to stand for 30 min to cold. The dissolution of the residue is performed by placing the samples 1h on a hotplate at 60°C. The obtained mixture is transferred to a 100 ml flask by filtration, adjusting with distilled water to the mark.

Analytical procedures for lichens concentrations

The concentrations of the following elements Cr, Cu, Ni, Cd were determined by Atomic Absorption Spectrophotometry with Flame (AASF). There are no established standards of trace elements concentration in lichens (Bettinelli et al., 1996). To interpret the results of each element studied, we use as standard reference values, the unit's concentration ranges (Quevauviller et al., 1996) (table 2).

Statistical analysis

Data were first subjected to Principal Components Analysis (PCA) to examine the relationships among the trace elements and the bioaccumulation by lichens, and the Relations between the presence of these elements and the vehicle circulations. Cluster analysis (UPGMA) was carried out on the original variables and on the Manhattan distance matrix to seek for hierarchical associations among the elements and stations; to test for significant differences among means of samples, the ANOVA is used. The statistical analyses were carried out using STATISTICA 10 software.

RESULTS AND DISCUSSION

The analysis of metal elements accumulated in the thalli of *Xanthoria parietina* by AAS gave the contents of metal elements that vary from one station to another (Table 3). The element displaying the highest average concentration in *X. parietina* sample was Zn (91.70 ± 40.62), while Cu was least abundant.

The analyzed metal concentrations were distributed in the following order: Zn > Cr > Ni > Cu.

The Zn presents the highest variation (97.14 ± 45.27), followed by Cr (89.44 ± 34.99) then Ni (39.52 ± 19.15), by against Cu has a very low variability. The higher are the Zn while Cu is less abundant. The concentrations of the metals analyzed are distributed in the following order: Zn > Cr > Ni > Cu. The analyses of the concentrations of the five metals in the 16 samples showed a subdivision into two clusters (figure 2).

The rate of Cr accumulated in the *X. parietina* thallus, show values exceeding the certified standard, which is 4.12 mg / kg (reference standard). There are three class groups of accumulation of this metal. Very high concentrations relate the stations, El-Eulma, Guergour, Tizi N'bechar, Setif, Ain Oulmene, El Ouricia and Zanadia. The stations of Beni-Ouartilene, Salah-Bey, Amoucha, Guellal and Ouled Sabor, show high rates, while the lowest rate was observed in the municipalities of Ain-Arnat, Bougâa, Beni-Chebana and Mezloug.

The accumulation of Cu is very high in the Ain-Arnat station, and exceeds the certified standard (7.03 mg/kg), while the rest of the stations have low levels. The Ni accumulated in *X. parietina* thalli, present in all stations, values exceeding the certified standard, which is 2.47 mg/kg. The Zn rate accumulated in the *X. parietina*, shows values below the standard certified (100.6 mg/kg), except for stations of El-Ouricia and Ain-Arnat which slightly exceed the standard, against the stations of Setif, Ain-Oulmene, Bougâa well above the certified standard. The concentration of heavy metals in the lichen has a significant difference, and analysis of these metals exhibit a high variability between the plants studied (Figure 3).

The three-dimensional spatial projection of stations, based on the first three axes resulting from the PCA (Figure 4) shows the separation of populations of Ain Arnat and Bougâa, while the remaining populations are less separated and the distinction between them is not clear.

The UPGMA confirms the separation of stations into many groups (Figure 5). This separation, based on the (Unweighted Pair-Group Average) and Euclidean distance, is due to the concentration of heavy metals in lichen thalli. This separation reflects heterogeneity in the metal accumulation in *X. parietina*.

The first group is represented by the stations of Ain Arnat and Bougâa, the second group split into two groups; one notices the separation of Setif and Ain Oulmene. The rest of the stations form an amalgam representing the same groups as those of the CPA except for the station of El-Eulma.

The analysis shows the presence of a quantitative diversity, which can be explained by environmental hazards, demographic and especially those related to the use of vehicles that accentuate the accumulation of these metals in lichen thalli. The two statistical analyzes (PCA and UPGMA) have failed to separate our stations in distinct homogeneous groups. Our goal is to find the relationships between stations, located on the same road, and concentrations of metallic elements. For that we applied a third statistical analysis (ANOVA). This technique allowed us the comparison between the average concentrations of heavy metals and roads (table 4).

The comparison of average metal concentrations, of different sites with the certified standard, shows that the values fluctuate with remarkable peaks for chromium and nickel, and a slight increase for the zinc in the RN 74. These results are superior to certified values, while copper levels remain below the standards set.

The ANOVA did not reveal significant difference inter-stations for the accumulation of metals. However, a highly significant difference was observed in the stations (highway) for the Chrome (p = 0.0006 > 0.001). For copper and nickel, there's a very significant difference between the axes studied (p = 0.028

and $p = 0.018 > 0.01$). By cons there is no significant difference between the average grades of the samples analyzed regardless of the study area for zinc ($p=0.7 > 0.05$) (tableau 5). The use of test comparing averages (LSD - Fischer) allowed us to differentiate between the elements and roads (Table 6).

The schematic representation of these results allowed us to better identify the relationships between groups. Regarding the Zn, the test LSD-file shows no significant difference between the stations and the certified standard. This test shows a significant difference between the stations and the standard for Ni; and a non-significant difference between the stations (Figure 6).

Concerning Cr one notices the separation of stations and standard; by against the axes have significant differences. We note that there are no significant differences between the stations and the standard for copper Cu. For the classification of traffic routes according to metallic element accumulation, the Score method was applied (Table 7). The RN 5 is ranked first with a score of 4, meaning that this axis is the most contaminated by heavy metals. While RN9, RN 28 and RN 74 with a score of 3, are less polluted than the axis of the RN 5.

DISCUSSION

The accumulation of Cr and Ni in the thallus of *Xanthoria parietina* in the study sites has values exceeding the certified standards. This high concentration is due to the intense movement of vehicles in these axes, which contributes to air emissions and industrial activities (Scerbo et al., 1999, 2000; Brunialti and Frati, 2007; Doğrul-Demiray et al., 2012; Delmas-Gadras, 2000). The atmospheric deposition of chromium, copper, nickel and zinc, in Hungary, on the foams are associated with different sources (chemical, steel mills, coal combustion, and transportation and energy production) (Otvos et al., 2003; Figueiredo et al., 2007).

The concentration of zinc in lichens of the stations of El Ouricia and Ain Arnet (urban area) slightly exceeds the standard, by against in Setif (Downtown), Ain Oulmene and Bougaa (urban area) stations, the concentrations are well above the certified standard. This trend can be explained by the difference in the intensity of car traffic between the two sites; in addition, the towns of Setif, Ain Oulmene and Bougaa are near of industrial activities.

Concerning the roads traversing the study area, two groups are distinguished. The first group is represented by the RN5, characterized by high pollution by heavy metals. This axis is characterized by very important road traffic. The second group, formed by the RN 28, RN 74 and RN 9, the pollution is moderate. This heavy metal concentration is explained by the intensity of car traffic (Sarmoum et al., 2014).

The traffic and road infrastructure are an important source of heavy metals released into the environment, the main pollutants emitted, the lead, zinc and cadmium are mainly present in the exhaust gas and the brake linings. Zinc is also present in tires, lubricants and particularly in the guard rails (Deletraz, 2000). The Brakes represents a significant source of copper (Pagotto, 1999). Human activities are also capable of emitting various substances, mainly in the large urban centers (industry, energy production...), the mining areas, extraction and high agricultural productivity sectors (Agnan et al., 2013).

CONCLUSION

Concentrations of four heavy metals (Cr, Zn, Cu and Ni) were determined in the thalli of *Xanthoria parietina*, harvested from 16 stations in the Setif region. This study showed that *X. parietina*, is a species accumulating heavy metals (pollutants) at a variable degree of tolerance.

The concentration of (Cr, Zn and Ni) is high in all the stations relative to the normal content; for Cu, the contents registered in all the stations are low. On the basis of the rate of accumulation of heavy metals by lichen, we have defined two groups of roads according to the degree of pollution: RN 5 is a highly contaminated axis, it represented by urban sites in Setif region. While the RN 28, RN 74 and RN 9, are moderate pollution stations. This pollution is mainly due to traffic and road infrastructure.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was conducted with the support of MESRS program (F01220110012). We would like to thank everyone who contributed to this work, in particular, Pr. Benachour D. professor at the Faculty of Science (UFAS).

Figures

Figure 1: Location of the sampling stations

Figure 2: Dendrogram of the elements, based on the data of table 3

Figure 3: Concentration variability in heavy metals in *Xanthoria parietina*

Figure 4: Spatial projection of stations, based on the first three axes, from the ACP

Figure 5: UPGMA, based on the concentration of heavy metals

Figure 6: Relationship between groups and the standards certified

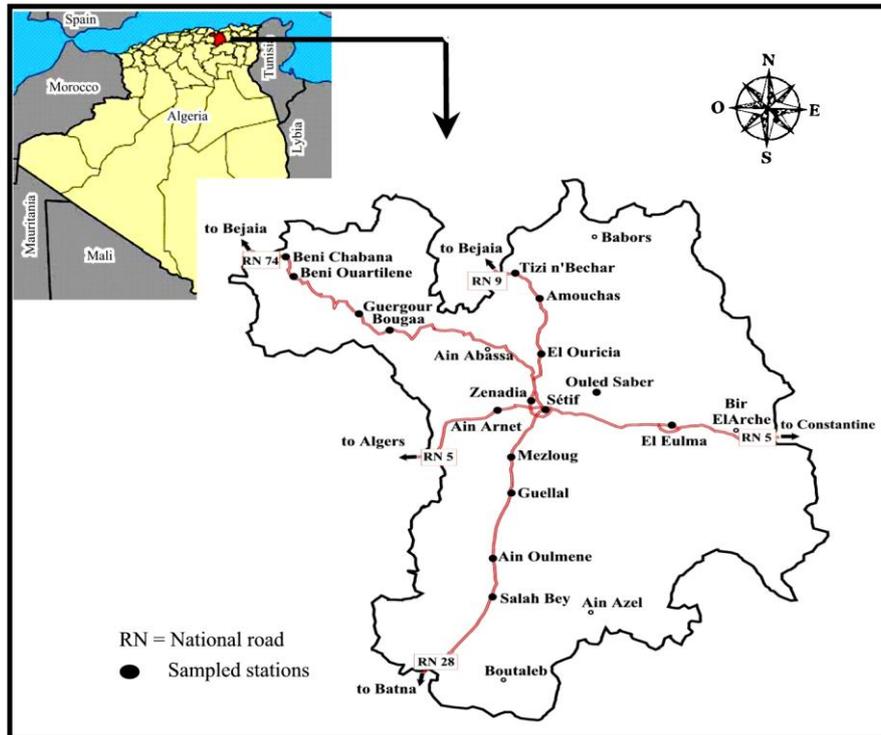


Figure 1: Location of the sampling stations

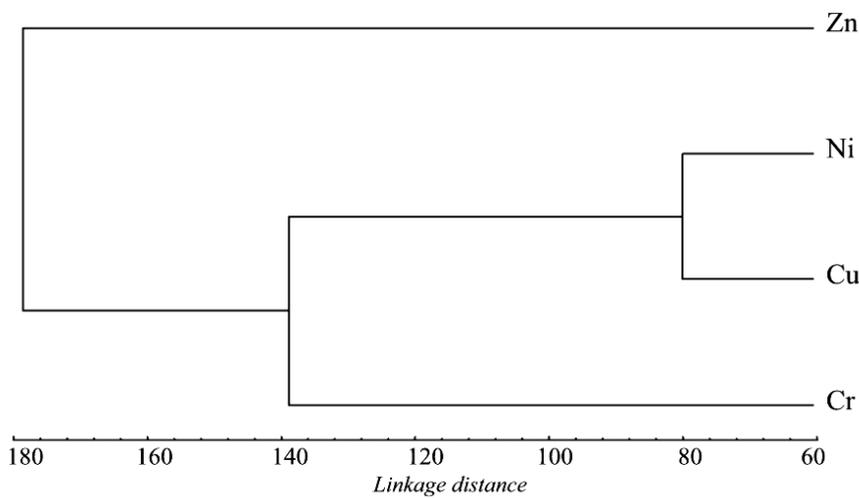


Figure 2: Dendrogram of the elements, based on the data of table 3.

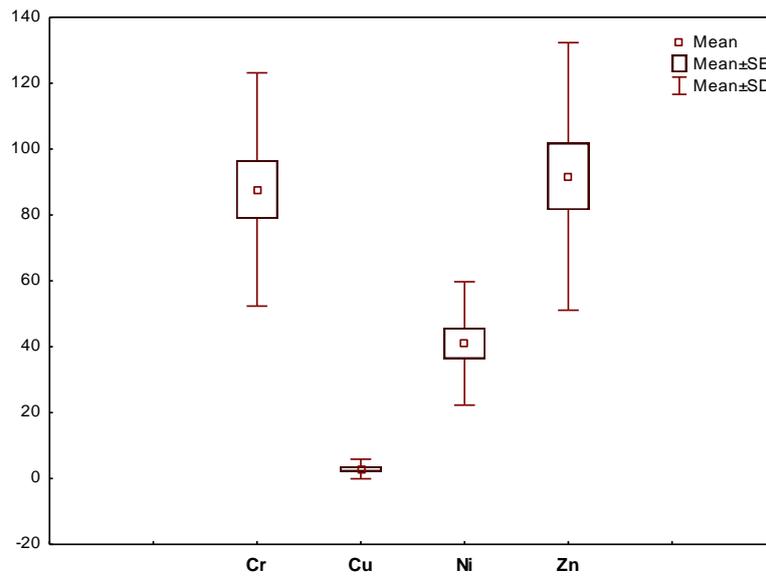


Figure 3: Concentration variability in heavy metals in *Xanthoria parietina*

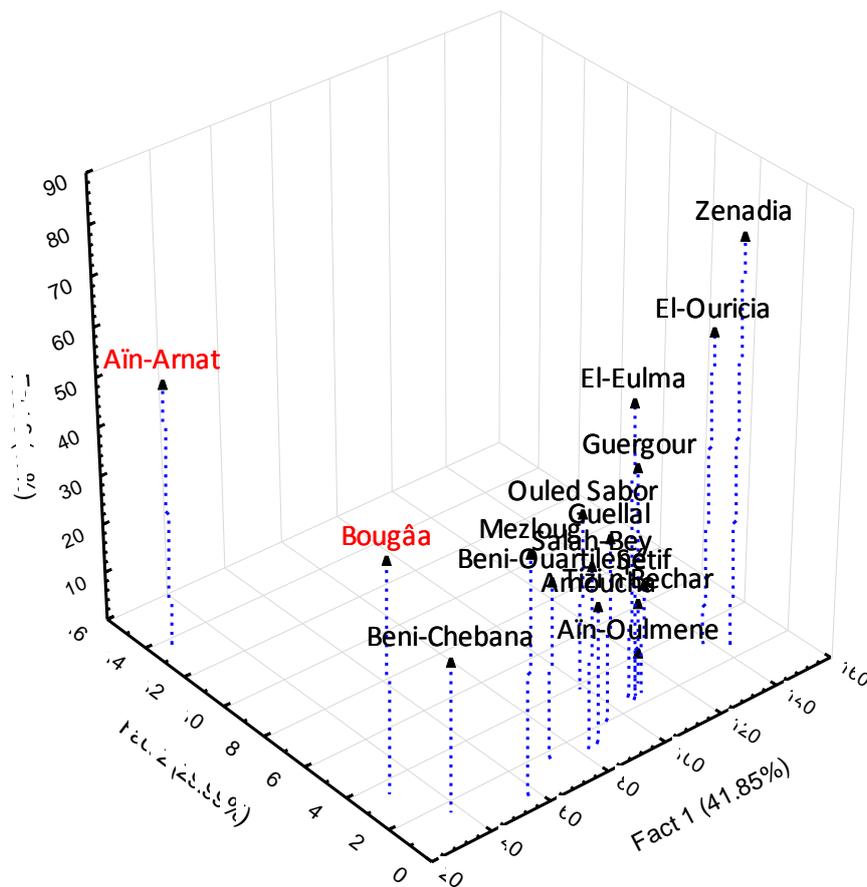


Figure 4: Spatial projection of stations, based on the first three axes, from the ACP

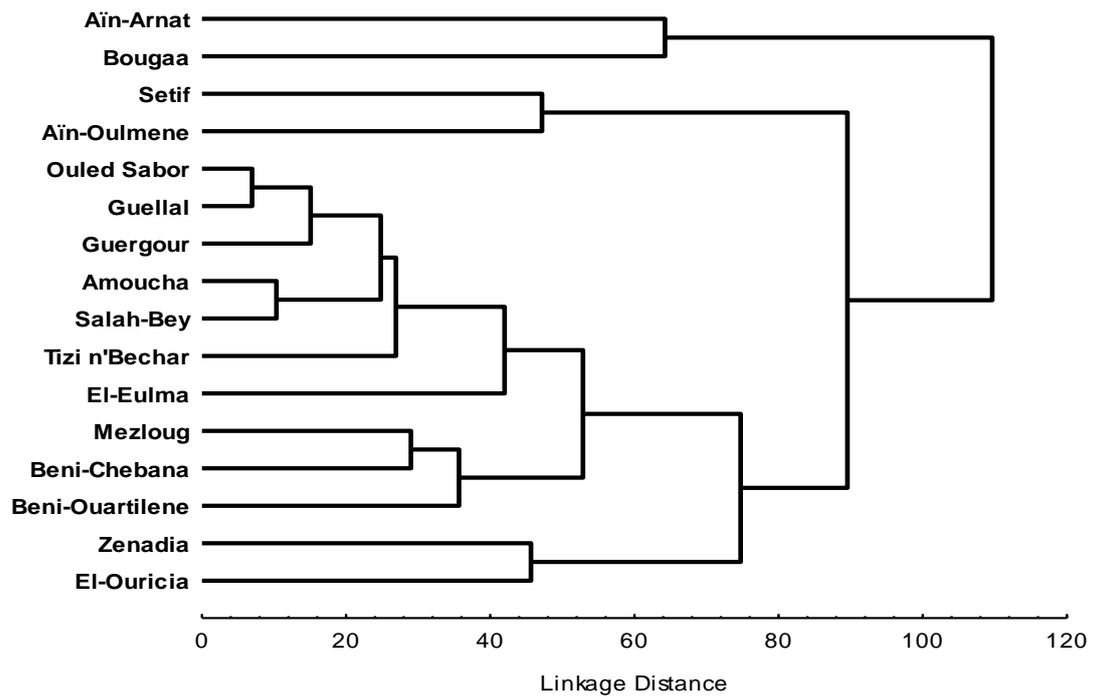


Figure 5: UPGMA, based on the concentration of heavy metals

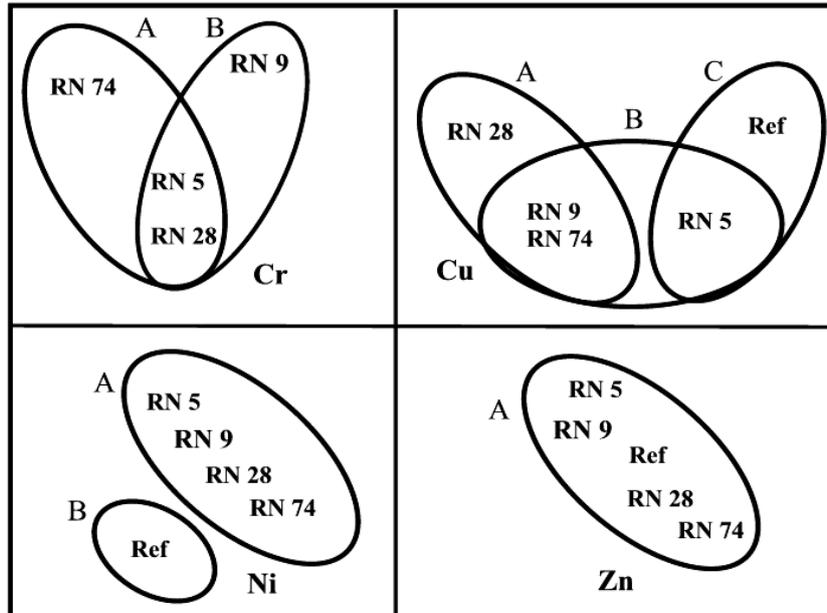


Figure 6: Relationship between groups and the standards certified

Tables

Table 1: Geographic coordinates of the stations sampled

Table 2: Certified values according to (AASF) of trace elements

Table 3: Concentrations of trace elements (mg/kg) in *Xanthoria parietina*

Table 4: Average concentrations of heavy metals

Table 5: Variance analysis of heavy metal

Table 6: the Difference between the elements traces and roads (LSD – Fischer)

Table 7: Classification of areas according to scoring method

Table 1: Geographic coordinates of the stations sampled

Localities	Altitude (m)	Geographic coordinates	National road (RN)
Ain Arnat	1018	36° 11' N ; 05° 19' E	
Setif	1100	36° 09' N ; 05° 26' E	
Ouled Saber	1075	36° 09' 46" N ; 05° 33' 43" E	RN5
El Eulma	950	36° 09' 23" N ; 05° 41' 06" E	
Tizi N'Bechar	895	36° 25' 52" N ; 05° 21' 36" E	
Amoucha	800	36° 23' 17" N ; 05° 24' 39" E	
El Ouricia	1138	36° 17' 01" N ; 05° 24' 34" E	RN 9
Zenadia	1150	36° 09' N ; 05° 26' E	
Mezloug	915	36° 06' 28" N ; 05° 20' 13" E	
Guellal	905	36° 02' 42" N ; 05° 19' 41" E	
Ain Oulmene	928	35° 54' N ; 05° 17' E	RN 28
Saleh bey	974	35° 51' 15" N ; 05° 17' 30" E	
Beni Ourtilane	900	36° 26' N ; 04° 54' E	
Beni Chebana	750	36° 27' 54" N ; 04° 52' 34" E	
Guergour	647	36° 19' N ; 05° 04' E	RN 74
Bougâa	840	36° 19' 57" N ; 05° 05' 19" E	

Table 2: Certified values according to (AASF) of trace elements

Elements	Wavelength (nm)	Detection Limit (mg/kg)	Certified values (mg/kg)
Cr	357,9	0,06	4,12
Cu	324,7	0,03	7,03
Ni	232	0,1	2,47
Zn	213,9	0,01	100,6

Table 3: Concentrations of trace elements (mg/kg) in *Xanthoria parietina*

Road*	Station	Cr	Cu	Ni	Zn
RN 5	Aïn-Arnat	26.4	13.6	53.57	121.69
	Setif	109.82	2.35	22.46	124.75
	Ouled Sabor	98.2	3.7	35.85	77.03
	El Eulma	105.59	2.44	59.75	38.98
RN 9	Zanadia	143.08	2.48	82.62	63.35
	El Ouricia	137.8	3.05	63.46	104.44
	Amoucha	85.53	1.25	28.02	59.7
	Tizi N'Bechar	107.71	2.34	19.37	62.91
RN 74	Bougaa	29.57	3.32	47.18	184.7
	Guergour	106.12	2.22	47.39	74.97
	Beni-Chebana	36.96	1.46	30.7	83.77
	Beni-Ouartilene	71.8	1.58	35.85	99.5
RN 28	Mezloug	57.02	0.6	48.83	73.33
	Guellal	93.95	1.93	37.5	72.09
	Ain-Oulmene	111.93	2.8	6.18	168.97
	Salah-Bey	82.36	1.22	37.5	57.08
	Average	87.74	2.90	41.01	91.70
	SD	35.40	2.97	18.73	40.62
	Min.	26.40	0.60	6.18	38.98
	Max.	143.08	13.60	82.62	184.70
	Certified standard**	4.12	7.03	2.47	100.6

Table 4: Average concentrations of heavy metals

Road	Elements	Average	Median	Sum.	Min.	Max.	SD	Variance
RN 5	Cr	85.00	101.90	340.01	26.40	109.82	39.36	1549.39
	Cu	5.52	3.07	22.09	2.35	13.60	5.42	29.38
	Ni	42.91	44.71	171.63	22.46	59.75	16.98	288.42
	Zn	90.61	99.36	362.45	38.98	124.75	40.75	1660.53
RN 9	Cr	118.53	122.76	474.12	85.53	143.08	26.96	726.70
	Cu	2.28	2.41	9.12	1.25	3.05	0.75	0.57
	Ni	48.37	45.74	193.47	19.37	82.62	29.75	885.30
	Zn	72.60	63.13	290.4	59.70	104.44	21.29	453.22
RN 28	Cr	86.32	88.16	345.26	57.02	111.93	23.01	529.42
	Cu	1.64	1.58	6.55	0.60	2.80	0.95	0.90
	Ni	32.50	37.50	130.01	6.18	48.83	18.34	336.47
	Zn	92.87	72.71	371.47	57.08	168.97	51.27	2628.58
RN 74	Cr	61.11	54.38	244.45	29.57	106.12	35.20	1239.39
	Cu	2.15	1.90	8.58	1.46	3.32	0.85	0.72
	Ni	40.28	41.52	161.12	30.70	47.39	8.36	69.85
	Zn	110.74	91.64	442.94	74.97	184.70	50.34	2534.43

Table 5: Variance analysis of heavy metal

		SS	MS	F	p
Cr	highway	29049.7	7262.4	8.9772	658.10 ⁻⁶
	Error	12134.7	809.0		
	Total	41184.4			
Cu	highway	92.0	23.0	3.6428	28897.10 ⁻⁶
	Error	94.7	6.3		
	Total	186.7			
Ni	highway	5280.4	1320.1	4.1774	18053.10 ⁻⁶
	Error	4740.1	316.0		
	Total	10020.6			
Zn	highway	3163.5	790.9	0.5434	706445.10 ⁻⁶
	Error	21830.3	1455.4		
	Total	24993.9			

Table 6: the Difference between the elements traces and roads (LSD – Fischer)

highway	Cr			Cu			Ni		Zn
	A	B	C	A	B	C	A	B	A
1	****	****			****	****	****		****
2		****		****	****		****		****
3	****	****		****			****		****
4	****			****	****		****		****
5			****			****		****	****

Table 7: Classification of areas according to scoring method

Area	Average				Score
	Cr	Cu	Ni	Zn	
RN 5	AB <u>85.00</u>	BC 5.52	A 42.91	A 90.61	1 + 1 + 1 + 1 = <u>04</u>
RN 9	B 118.53	AB 2.28	A <u>48.37</u>	A 72.60	1 + 0 + 1 + 1 = <u>03</u>
RN 28	AB 86.32	A 2.46	A 32.50	A 92.87	1 + 0 + 1 + 1 = <u>03</u>
RN 74	A 61.11	AB 2.15	A 40.28	A <u>110.74</u>	1 + 0 + 1 + 1 = <u>03</u>
Standard values	C 4.12	C 7.03	B 2.47	A 100.45	
Max	AB 85.00	C 7.02	A 48.37	A 110.74	

REFERENCES

- Agnan Y, Séjalon-Delmas N, Claustres A, Probst A (2013). Large scale atmospheric contribution of trace elements registered in foliose lichens in remote French areas. 16th International Conference on Heavy Metals in the Environment, Rome, 23-27 Sept. 2012 Pirrone N., Rome, Italy.
- Baffi C, Bettinelli M, Beone GM, Spezia S (2002). Comparison of different analytical procedures in the determination of trace elements in lichens, Chemosphere. 48: 299–306.
- Bargagli R (1998). Trace Elements in Terrestrial Plants: An Ecophysiological Approach to Biomonitoring and Biorecovery. Springer-Verlag, Berlin, 324p.
- Bargagli R, Monaci F, Borghini F, Bravi F, Agnorelli C (2002). Mosses and lichens as biomonitors of trace metals. A comparison study on *Hypnum cupressiforme* and *Parmelia caperata* in a former mining district in Italy. Environmental pollution 116: 279-287.
- Bergamaschi L, E Rizzio, G Giaveri, S Loppi, M Gallorini (2007). Comparison between the accumulation capacity of four lichen species transplanted to an urban site, Environmental Pollution. 148: 468-476
- Bettinelli M, Spezia S, Bizzarri G (1996). Trace element determination in lichens by ICP-MS. At Spectrosc. 17: 133-141.
- Brunialti G, Frati L (2007). Biomonitoring of nine elements by the lichen *Xanthoria parietina* in Adriatic Italy: a retrospective study over a 7-year time span, The Science of the Total Environment. 387: 289-300.
- Certu (2004). Comparaison de méthodes d'analyse des éléments traces métalliques ETM et des hydrocarbures Aromatiques Polycycliques HAP sur les sols et les végétaux, Centre d'études sur les réseaux, les transports, l'urbanisme et les constructions publiques, Lyon, France, 12p.

- Clement R E, Eiceman G A, Koester C J (1995). Environmental analysis. *Anal Chem.* 67: 221-255.
- Cuny D, Davranche L, Thomas P (2004). Spatial and temporal variations of trace element contents in *Xanthoria parietina* thalli collected in a highly industrialized area in Northern France as an element for a future epidemiological study. *Journal of Atmospheric Chemistry.* 49: 391-401.
- Deletraz G (2000). Géographie des risques environnementaux liés aux transports routiers en montagne. Incidences des émissions d'oxydes d'azote en vallées d'Aspe et de Biriou (Pyrénées). Thèse de Doctorat en Géographie – Aménagement. Université de Pau et des Pays de l'Adour. Institut de recherche sur les sociétés et l'aménagement, 564 p.
- Delmas-Gadras C (2000). Influence des conditions physico-chimiques sur la mobilité du plomb et du zinc dans un sol et un sédiment en domaine routier. Thèse de docteur de l'université de Pau et des Pays de l'Adour (France), 191 p.
- Doğrul-Demiray Do, Yolcubal I, Akyol N H, G Çobanoğlu (2012). Biomonitoring of airborne metals using the Lichen *Xanthoria parietina* in Kocaeli Province, Turkey. *Ecological Indicators.* 18: 632-643.
- Dzubaj Alexander, Martin Bac, kor, Jaroslav Tomko, Evelin Peli, Zoltan Tuba (2008). Tolerance of the lichen *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr. to metal stress, Ecotoxicology and Environmental Safety. 70: 319-326
- Ferry B W, Baddeley M S, Hawksworth D L (1973). Air pollution and lichens. Toronto: University of Toronto Press.
- Figueiredo, A.M.G., Nogueira, C.A., Saiki, M., Milian, F.M., Domingos, M. 2007. Assessment of atmospheric metallic pollution in the metropolitan region of Sao Paulo, Brazil, employing *Tillandsia usneoides* L. as biomonitor. *Environmental Pollution* 145: 279-292.
- Garty J (1993). Lichens as biomonitors for heavy metal pollution. In: Markert B, editor. *Plants as biomonitors.* VCH Publishers. 194-263.
- Maizi Naila, Amel Alioua, Ali Tahar, Faten Semadi, Djamel Fadel (2010). The use of inferior plants as bioindicators of automobile lead pollution in the area of Annaba (Algeria). *J. Mater. Environ. Sci.* 1(4): 251-266
- Markert B (1993). Plants as biomonitors. Indicators for heavy metals in the terrestrial environment. Weinheim. VCH. 644p.
- Nash T H, III; Wirth V (1988). Lichens, bryophytes and air quality. *Bibliotheca Lichenologica* 30. Berlin-Stuttgart, Germany: J. Cramer in der Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, 297 p.
- Nayaka S, Upreti D K, Gadgil M, Vivek P (2003). Distribution pattern and heavy metal accumulation in lichens of Bangalore city with special reference to Lalbagh garden. *Curr. Sci.* 84: 674-680.
- Nieboer E, Richardson D H S (1981). Lichens as monitors of atmospheric deposition. In: Eisenreich, S.J. (Ed.), *Atmospheric Pollutants in Natural Waters.* Ann Arbor Science, (Publisher), Inc., pp. 339-388.
- Nimis P L, Andreussi S, Pittao E (2001). The performance of two lichen species as bioaccumulators of trace metals. *Science of the Total Environment.* 275: 43-51.
- Nimis P L, Lazzarin G, Lazzarin A, Skert N (2000). Biomonitoring of trace elements with lichens in Veneto (NE Italy). *The Science of the Total Environment.* 255: 97-111.
- Nriagu J O, Pacyna J M (1988). Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soil by trace metals. *Nature.* 333: 134-139.
- Otvos E, Pazmandi T, Tuba Z (2003). First national survey of atmospheric heavy metal deposition in Hungary by the analysis of mosses. *The Science of the Total Environment.* 309: 151-160.
- Pagotto C (1999). Etude sur l'émission et le transfert dans les eaux et les sols des éléments traces métallique et des hydrocarbures en domaine routier. Thèse de doctorat : chimie et microbiologie de l'eau, science et techniques. Université de Poitiers. 252 p
- Patterson C C, Settle D M (1987). Review of data on eolian fluxes of industrial and natural lead to the lands and seas in remote region on a global scale. *Marine Chemistry.* 22: 137-162.
- Puckett K J, Nieboer E, Gorzynski M J and Richardson D H S (1973). The uptake of metal ions by lichens: a modified ion-exchange process. *New Phytologist.* 72: 329-342.
- Quevauviller Ph, Herzig R, Muntau H (1996). Certified reference material of lichen (CRM 482) for the quality control of trace element biomonitoring. *Sci. Total Environ.* 187: 143-152.
- Rao D N, Robitaille G, Le Blanc F (1997). Influence of heavy metal pollution on lichens and bryophytes. *J Hattori Bot Lab.* 42: 213-239.
- Reis M A, Alves L C, Freitas M C, Van Os B, Wolterbeek H T (1999). Lichens (*Parmelia sulcata*) time response model to environmental availability. *Sci Total Environ.* 232: 105-115.
- Rusu A M (2002). Sample Preparation of Lichens for Elemental Analysis. *Monitoring with Lichens - Monitoring Lichens, NATO Science Series.* 7: 305-309.
- Sarmoum M, Djebbar R, Latreche K (2014). Bioaccumulation de trois métaux lourds (Pb, Zn et Cd) par le lichen, *Xanthoria parietina*, dans la région Algéroise. *Revue Ecologie-Environnement.* (10): 25-29.
- Sarret G., Manceau A., Cuny D. 1998. Mechanisms of lichen resistance to metallic pollution. *Environ Sci Technol*, 32 : 3325-3330.
- Scerbo R, Possenti L, Lampugnani L, Ristori T, Barale R, Barghigiani C (1999). Lichen (*Xanthoria parietina*) biomonitoring of trace element contamination and air quality assessment in Livorno Province (Tuscany, Italy). *The Science of the Total Environment.* 241: 91-106.
- Scerbo R, Ristori T, Possenti L, Lampugnani L, Barale R, Barghigiani C (2000). Lichen (*Xanthoria parietina*) biomonitoring of trace element contamination and air quality assessment in Pisa Province (Tuscany, Italy). *The Science of the Total Environment.* 286: 27-40.
- Sloof, J E (1995). Lichens as quantitative biomonitors for atmospheric trace-element deposition, using transplants. *Atmospheric Environment.* 29: 11-20.
- Stamenkovic S, Cvijan M (2003). Bioindication of air pollution in Nis by using epiphytic lichens. *Arch. Biol. Sci. Belgrade.* 55: 130-140.
- Van Dobben H F, H Th Wolterbeek, G W W Wamelink, C J F Ter Braak (2001). Relationship between epiphytic lichens, trace elements and gaseous atmospheric pollutants, *Environmental Pollution.* 112: 163-169
- Wytenbach A, Bajo S, Tobler L (1990). Major and trace elements in spruce needles by NAA. In: Schrauzer, G.N. (Ed.), *Biological Trace Element Research.* Humana Press, Clifton, UK, 213-221.



Original Research Article

Chemical composition and antimicrobial activity of *Evernia prunastri* and *Ramalina farinacea* from Algeria

Received 15 June, 2016

Revised 18 July, 2016

Accepted 23 July, 2016

Published 12 August 2016

Douibi Chahra¹, Messaoud Ramdani^{1*}, Takia Lograda¹, Pierre Chalard^{2,3}, and Gilles Figueredo⁴

¹Laboratory of Natural Resource Valorisation, SNV Faculty, Ferhat Abbas University Setif-1, 19000 Setif, Algeria.

²Clermont Université, ENSCCF, Institut de Chimie de Clermont-Ferrand, BP 10448, F-63000, France.

³CNRS, UMR 6296, ICCF, F-63171 Aubière, France.

⁴LEXVA Analytique, 460 rue du Montant, 63110 Beaumont, France.

*Corresponding Author Email: ramdanimesaoud@yahoo.com

Tel.: (213) 658101010

Fax: (213) 36937943

The chemical composition of essential oil, isolated from *Evernia prunastri* and *Ramalina farinacea* by hydrodistillation, was analysed by GC and GC/MS. A total 32 compounds representing 93.64% of the oil were identified in *E. prunastri*. This oil is characterised by an n-octadecanol (54.06%), n-tetradecanol (8.27%), Heptadecane (4.70%), Eicosene-1 (3.82%), n-hexadecanol (2.32%), Tridecenol acetate (2.05%). *Ramalina farinacea* with 34 compounds, representing 76.04% of the total oil, is characterised by the Manool (14.21%), n-octadecanol (10.24%), Eicosene-1 (8.26%), n-tetradecanol (7.68%), Manool oxide-13-epi (5.40%), α -pinene (4.04%), Abietal (3.75%). To test the antibacterial activity of essential oil of these species, four bacteria are used in this study. The oils have shown little effect against gram-negative bacteria, and modest antibacterial activity against Gram positive bacteria.

Keywords: Lichens, *Evernia prunastri*, *Ramalina farinacea*, chemical composition, antibacterial activity, Babors, Algeria.

INTRODUCTION

Lichens are the symbiotic association of fungi and a photosynthetic partner, either a green algae or a cyanobacterium. The lichen's name refers to their fungal components, about 18000 lichen species are known. They are important constituents of many ecosystems. They usually grow on rocks and non-fertile ground and as epiphytes on trees and leaves (Seymour et al., 2005). Several lichens are identified as aromatic species (Liu et al., 2014). They provide a great variety of metabolic products, some of which appear to occur naturally only in lichens, while others are also present in higher plants and fungi. Their secondary products play a dominant role in the systematic of lichen. These metabolites sometimes account for more than 30% of the dry mass of the thallus. The volatile part of the extracts might represent a minor proportion of the constituents. On the other hand, good software (such as NIST, 2002) for searching various MS libraries (Adams, 2007; MC Lafferty et al., 2004) enables constituent identification by GC-MS for many known

compounds without isolation and standards (Stojanovic et al., 2011).

The lichen secondary metabolites are from derived of mycobiont metabolism, are organized into several distinct chemical classes (Johnson et al., 2011; Manojlovic et al., 2012), such as depsides, depsidones, dibenzofurans and phenolic compounds, most of which are not known from other groups of plants. The biological potential of the lichens has been proven through their use in folk medicine. The lichens are used for human and animal nutrition and in the production of colours, perfumes and alcohol Lichens have also been used in many countries as a cure for diseases in humans such as jaundice, pulmonary, stomach and cranial diseases (Goyal et al., 2016).

Lichens and their metabolites have manifold biological activities: antipyretic (Ingoldsdottir, 2002), antioxidant (Ozen and Kinaliogla, 2008; Luo et al., 2010; Kosanic et al., 2012b; Marijana et al., 2013), antitumor (Malhotra et al., 2008), anti-inflammatory (Süleyman et al., 2002),

antimicrobial (Marijana et al., 2010; Bahar et al., 2012), antiviral antibiotic allergenic, plant growth inhibitory, antiherbivore, ecological and enzyme inhibitory (Huneck, 1999; Karagoz et al., 2009; Kosanic and Rankovic, 2011; Kosanic et al., 2012b), and analgesic (Bugni et al., 2009).

Lichens may be used as possible natural antioxidant, antimicrobial and anticancer agents (Kosanic et al., 2012b, Manojlović et al., 2012; Ritika and Jayanthi, 2013). Lichens tested, showed a relatively high antibacterial activity (Dzomba et al., 2012; Tatjana et al., 2014; Tahereh and Minoo, 2015). The extracts of lichens tested, showed strong activity, antioxidant, antimicrobial and anti-cancer (Marijana et al., 2010, 2013).

The secondary metabolites have important biological activities such as antipyretic (Ingólfssdóttir, 2002), cytotoxic (Bezivin et al., 2003, 2004), antiinflatuar (Süleyman et al., 2002), antitumor (Malhotra et al., 2008), analgesic (Bugni et al., 2009), and antioxidant (Luo et al., 2010; Rankovic et al., 2011). Malaysian lichens showed a very strong antioxidant activity (Stanly et al., 2011).

Many lichens were used as a remedy for pulmonary tuberculosis and in the treatment of wounds and skin disorders, owing to pronounced antimicrobial activity of some of their secondary metabolites (Halama and Haluwin, 2004). In addition, lichens have also been identified as a source of biologically active enzymes, polysaccharides and fatty acids that may have pharmacological potential (Huneck and Yoshimura, 1996; Johnson et al., 2011). Lichen substances exert a wide variety of biological actions including antibiotic, antimycotic, antiviral, anti-inflammatory, analgesic, antipyretic, antiproliferative and cytotoxic effects (Manojlovic et al., 2010a, b; Kosanic et al., 2012a; Pavlovic et al., 2012). *Lobaria pulmonaria* and *P. sulcata* have been used in the treatment of pulmonary and cranial diseases respectively, *Xanthoria parietina* has been used to cure jaundice and *Letharia vulpina* has been used in the treatment of stomach diseases (Huneck, 1999; Kirmizigul et al., 2003; Malhotra et al., 2008). The usage of some lichens in traditional medicine for many years has been justified by subsequent research confirming their various biological activities.

The aim of the present work is the extraction and the identification of the compounds of essential oil of two species *Evernia prunastri* and *Ramalina farinacea* by CG/MS, and tested the antibacterial activity of secondary metabolites of these lichens.

MATERIALS AND METHODS

Plant material

Lichen samples of *Evernia prunastri* (L.) Ach. and *Ramalina farinacea* (L.) Ach. (Figure 1 and 2) were collected from Babors Mountains (Setif, Algeria) (Figure 3) in September 2014. The voucher specimens were deposited in the herbarium of the Department of Biology and Ecology Vegetal, Setif-1 University, Algeria. The air dried materials

were subjected to hydro-distillation for 3h using a Clevenger apparatus type. The oil obtained was collected and dried over anhydrous sodium sulphate and stored at 4°C in sealed brown vials until use.

Essential oil analysis

The essential oils were analysed on a Hewlett-Packard gas chromatograph Model 5890, coupled to a Hewlett-Packard model 5971, equipped with a DB5 MS column (30 m X 0.25 mm; 0.25 µm), programming from 50°C (5 min) to 300°C at 5°C/min. with a 5 min hold. Helium was used as the carrier gas (1.0 ml/min); injection in split mode (1:30); injector and detector temperatures, 250 and 280°C, respectively. The mass spectrometer worked in EI mode at 70 eV; electron multiplier, 2500 V; ion source temperature, 180°C; MS data were acquired in the scan mode in the m/z range 33450. The identification of the components was based on comparison of their mass spectra with those of NIST mass spectral library (Masada, 1976; NIST, 2002; MC Lafferty et al., 2004), and those described by Adams, as well as on comparison of their retention indices either with those of authentic compounds or with literature values (Adams, 2007).

Antibacterial activity

Two gram negative and two gram positive bacteria strains were used to determine the antibacterial activity of essential oil of *E. prunastri* and *R. farinacea*. Bacteria are used in the study as follows: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* 25922 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. The anti-bacterial activity of the essential oils was determined by the disc diffusion method (Cockerill et al., 2012). The inoculums contain 2.0×10^8 CFU/mL of bacteria. Sterile absorbing paper discs (6 mm in diameter) were impregnated with 10 µl of different oil dilutions (1, 1/2 and 1/5 v/v) in Dimethyl sulfoxide (DMSO), and then placed on the surface of inoculated Petri dishes (90 mm). The diameter of inhibition was measured after 24 h of incubation at 37°C. Gentamicin [10µg/mL and DMSO were used as positive and negative controls, respectively. The diameters of the inhibition zones were measured in mm. All the growth inhibition tests were performed in triplicate.

RESULTS

The essential oil, of two lichens species, isolated by hydrodistillation from the aerial parts, was obtained in very low yield 0.01% (v/w). The analysis by gas chromatography/mass spectrometry (GC-MS) (Figure 4 and 5) of the chemical composition of essential oils, we allowed the identification of 32 compounds in oil of *E. prunastri*, representing 93.64% of the total oil, and 34 compounds representing 76.04% of the total oil of *R. farinacea*.

The compounds, identified in these oils and their relative



Figure 1: *Evernia prunastri* (L.) Ach



Figure 2: *Ramalina farinacea* (L.) Ach.

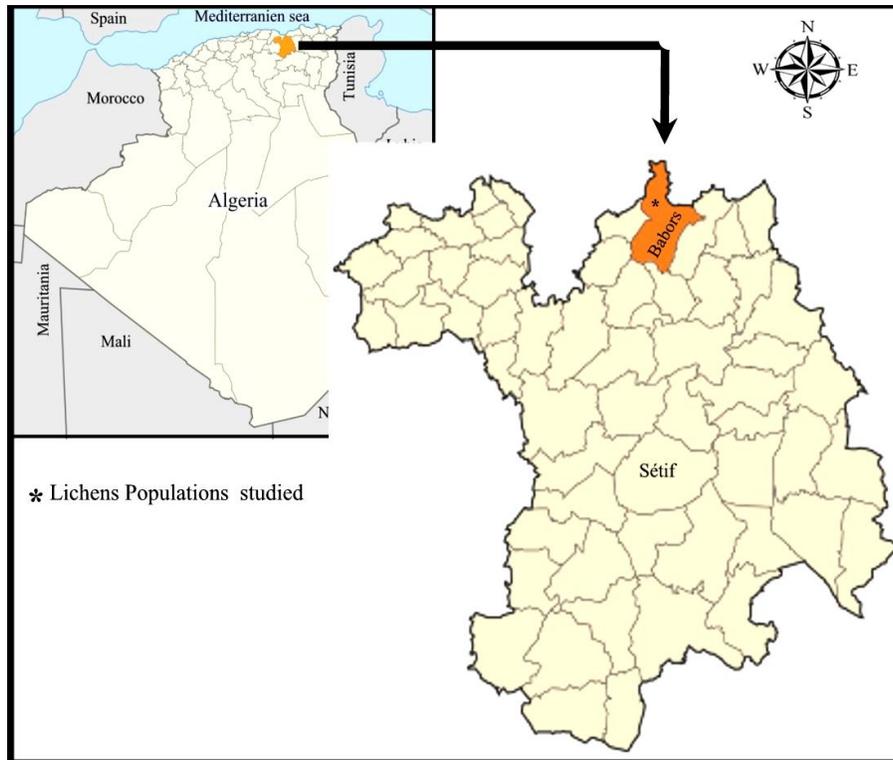


Figure 3: Populations of lichens studied

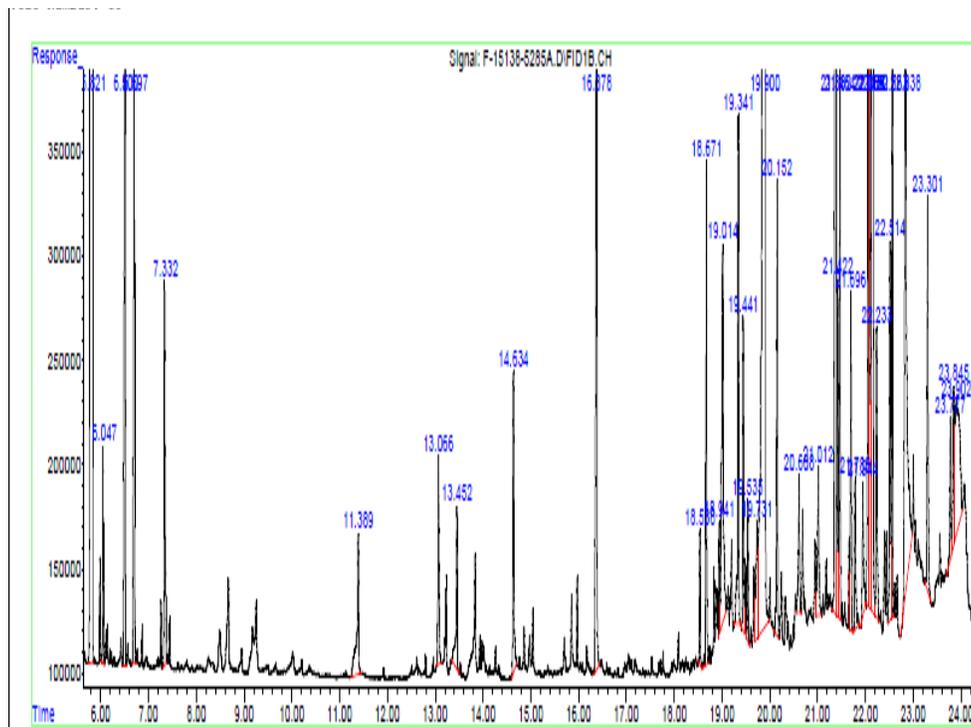


Figure 4: GC/FID profiles of *E. prunastri*

abundance, are presented in their order of appearance (Table 1). Both species studied, *E. prunastri* and *R.*

farinacea, are characterized by the presence of common major components, n-octadecanol (54.06%-10.24%), n-

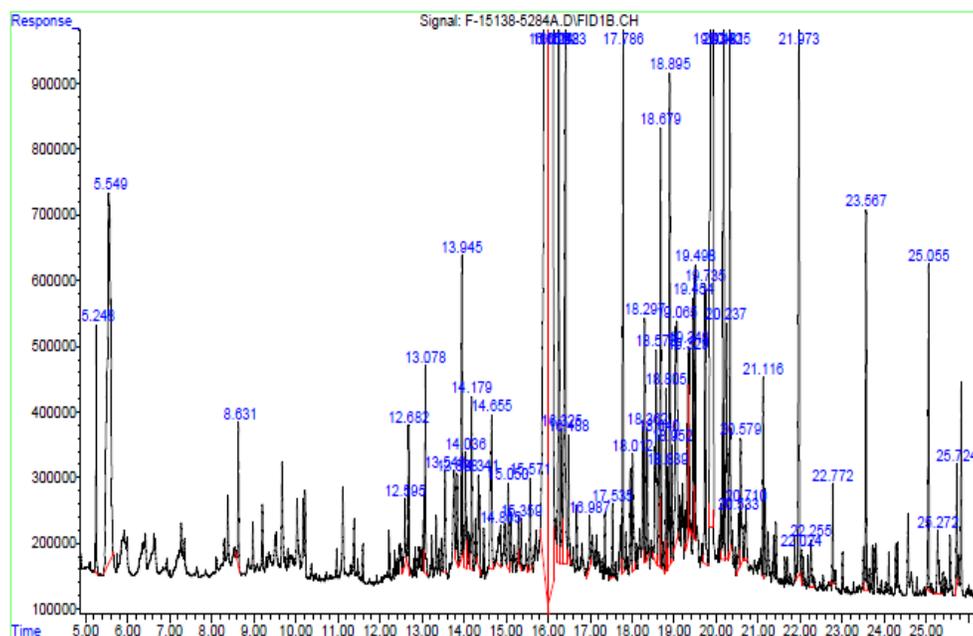


Figure 5: GC/FID profiles of *R. farinacea*

Table 1. Chemical composition of essential oil of *Evervia prunastri* and *Ramalina farinacea*

KI	<i>E. prunastri</i>		KI	<i>R. farinacea</i>			
	<i>E. prunastri</i>	<i>R. farinacea</i>		<i>E. prunastri</i>	<i>R. farinacea</i>		
Total	93.64	76.04	Total	93.64	76.04		
Number of compound	32	34	Number of compound	32	34		
Yield %	0.01	0.01	Yield %	0.01	0.01		
α -pinene	940	0.66	4.04	Cedrol-epi	1675	0.37	0.00
β -pinene	984	0.28	0.59	Cubanol-1,10 Diepi	1675	0.00	0.87
Myrcene	996	0.00	0.79	n-tetradecanol	1683	8.27	7.68
Cymene-ortho	1032	0.00	1.65	Heptadecane (C17)	1713	4.70	0.00
Limonene	1037	0.00	1.09	Tridecenol acetate	1729	2.05	0.00
β -phellandrene	1038	0.00	0.03	Pentadecanol-n	1807	0.68	0.00
Linalool	1108	0.00	2.43	Octadecane (C18)	1813	0.84	0.00
n-nonanal	1113	0.29	0.00	Isopropyl tetradecanoate	1837	0.78	0.00
Borneol	1184	0.00	0.38	n-hexadecanol	1907	2.32	0.00
α -terpineol	1206	0.00	1.23	Nonadecane C19	1915	1.83	0.00
Cogejerene	1254	0.00	1.14	7-hexadecen-16-olide-Z	1935	0.80	0.00
Bornyl acetate	1295	0.00	0.43	Acetoxyeudesman 4- α -ol-11	1973	0.55	0.00
Undecanone-2	1302	0.68	0.29	Eicosene-1	2015	3.82	8.26
Tridecane	1309	0.28	0.00	Manool oxide-13-epi	2020	0.00	5.40
Undecanal	1319	0.51	0.00	Kaurene	2025	0.00	0.42
Tetradecane (C14)	1410	0.60	0.00	Manool	2077	0.49	14.21
Tridecanone-2	1413	0.49	0.00	n-octadecanol	2106	54.06	10.24
Cymene-2,5-d-methoxy	1423	0.00	0.52	Docosene-1 (C22)	2154	0.40	0.74
Crowceacin	1446	0.00	2.54	Docosane	2217	0.69	1.47
Germacrene D	1497	0.00	0.63	Octadecanol acetate	2224	0.57	0.00
Pentadecane	1511	1.41	0.00	Abietal dehydro	2292	0.00	0.92
Tridecanal	1524	0.35	0.00	Tricosane	2317	0.53	0.48
Nerolidol-E	1574	0.00	0.71	Abietal	2340	0.00	3.75
Ionone dimethyl	1582	0.00	0.88	Tetracosane	2418	0.52	0.93
Caryophyllene oxide	1601	0.00	0.80	Pentacosane	2518	0.65	0.51
Hexadecane (C16)	1612	1.46	0.00	Hexacosane	2620	0.25	0.00
Tetradecanal	1626	0.97	0.00	Heptacosane	2721	0.49	0.00

Table 2. Antibacterial activity of essential oil extracts of lichens

Bacteria	G	<i>E. prunastri</i>			<i>R. farinacea</i>		
		Dilution					
		1	1/2	1/5	1	1/2	1/5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	25	7	7	0	7	0	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	23	9	7	8	8	7	0
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	14	7	0	0	8	7	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	26	12	9	8	10	7	0

G = Gentamicine; ATCC: American Type Culture Collection; Inhibition zone (diameter of the disk, 6 mm, included), values represent average of 3 determinations;

tetradecanol (8.27-7.68%) and eicosene-1 (3.82-8.26%) respectively.

E. Prunastri is isolated by the presence of heptadecane (C17) (4.70%), hexadecanol (2.32%) and tridecenol acetate (2.05%), while *R. farinacea* is characterized by presence of manool (14.21%), manool epi-13-oxide (5.40%), α -pinene (4.04%), Abietal (3.75%) and crowceacin (2.54%).

The anti-bacterial activity of the essential oils was determined by the disc diffusion method. The gram negative and gram positive bacteria strains used in this study showed a few significant resistances to the essential oil of *E. prunastri* and *R. farinacea* (Table 2). The inhibitions zones of *S. aureus* ATCC 25923 and *S. epidermidis* ATCC 12228 is less than 1/3 (7-9 mm) in the activity of gentamicin (23-25 mm), indicating that the effect of *E. prunastri* oil on these bacteria is very low.

The inhibitions zones of *E. coli* ATCC 25922 and *P. aeruginosa* ATCC 27853, represent half (7-12 mm) of the gentamicin activity (14-26 mm), indicating that the effect of oil *R. farinacea* on the bacteria gram-negative is average.

DISCUSSION

In the present study, the tested lichen extracts showed relatively a very low antimicrobial activity. The intensity of the antimicrobial effect depended on the species of lichen, the method of compounds extract, its concentration and the tested organism. The extracted with acetone, chloroform, diethyl ether and methanol, showed the presence of significant antimicrobial activity against several bacteria and fungi (Candan et al., 2007).

The hexane extract of *Evernia prunastri* had a low antimicrobial activity among the species tested (Aslan et al., 2006; Rankovic et al., 2010). The acetone extracts of the tree species of *Parmelia* were examined, they showed a strong antimicrobial and cytotoxic activities (Kosanic et al., 2011). The differences in antimicrobial activity of different species of lichens studied are probably a consequence of the presence of different components with antimicrobial activity (Aslan et al., 2006; Adedapo et al., 2008; Rankovic et al., 2010; Kosanic et al., 2011).

Conclusion

It can be stated that the tested lichen extracts have a low antimicrobial activities in vitro. These lichens appear to be bad antimicrobial agents and could also be probably irrelevant for the food industry and in the control of various human, animal and plant diseases. Further studies should be done to search for new compounds from lichens that exhibit strong antimicrobial, antioxidant and anticancer activities.

ACKNOWLEDGEMENT

This work was supported by MESRS of Algeria and in part, by the Laboratory of Chemistry and Heterocyclic of Clermont Ferrand, France.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests

REFERENCES

- Adams RP (2007). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. (4th Ed.) Carol Stream. IL, Allured Publishing Corporation. USA, 804p.
- Adedapo A, Jimoh F, Koduru S, Afolayan JA Masika JM (2008). Antibacterial and antioxidant properties of the methanol extracts of the leaves and stems of *Calpurina aurea*. BMC Compl. Altern. Med. 8: 53-60.
- Aslan A, Gulluce M, Sokmen M, Adiguzel A, Sahin F, Ozkan H (2006). Antioxidant and antimicrobial properties of the lichens *Cladonia foliacea*, *Dermatocarpon minutum*, *Evernia divaricata*, *Evernia prunastri* and *Neofuscella pulla*. Pharmaceut. Biol. 44: 247-252.
- Bahar BS, Sinem A, Kadir K (2012). Antioxidant and antibacterial properties of a lichen species *Diploschistes scruposus* (Schreb.). Norman IUFS J. Biol. 71(1): 43-51
- Bézivin C, Tomasi S, Lohézic-Le Dévéhat F, Boustie J (2003).

- Cytotoxic activity of some lichen extracts on murine and human cancer cell lines. *Phytomedicine*. 10: 499-503.
- Bézivin C, Tomasi S, Rouaud I, Delcros J, Boustie J (2004). Cytotoxic activity of compounds from the lichen *Cladonia convoluta*. *Planta Med*. 70: 874-877.
- Bugni ST, Andjelic CD, Pole AR, Rai P, Ireland CM, Barrows RL (2009). Biologically active components of a Papua New Guinea analgesic and anti-inflammatory lichen preparation. *Fitotherapy*. 80: 270-273.
- Candan M, Yilmaz M, Tay T, Erdem M, Turk AO (2007). Antimicrobial activity of extracts of the lichen *Parmelia sulcata* and its salazinic acid constituent. *ZNaturforsch*. 62: 619-621.
- Cockerill FR, Wikle MA, Alder J, Dudley MN, Eliopoulos GM, Ferrar MJ, Hardy DJ, Hecht DW, Hindl JA, Patel JB (2012). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, Approved Standard (9th Ed.). Clinical and Laboratory Standards Institute: 950 West Valley Road, Suite 2500 Wayne, PA 19087, USA, 277 p.
- Dzomba P, Togarepi E, Musekiwa C (2012). Phytochemicals, antioxidant and antibacterial properties of a lichen species *Cladonia digitata*, *Afr. J. Biotechnol*. 11(31): 7995-7999.
- Goyal PK, Verna SK, Sharma AK (2016). Pharmacological and phytochemical Aspects of lichen *Parmelia perlata*, *Int. Ayurveda Pharm*. 7(Suppl 1): 102-107.
- Halama P, van Haluwin C (2004). Antifungal Activity of Lichen Extracts and Lichenic Acids., *BioControl*. 49(1): 95-107.
- Huneck S (1999). The significance of lichens and their metabolites. *Naturwissenschaften*. 86: 559-570.
- Huneck S, Yoshimura I (1996). Identification of Lichen Substances. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Ingólfssdóttir K (2002). Usnic acid. *Phytochemistry*. 61(7): 729-736.
- Johnson CJ, Bennett JP, Biro SM, Duque-Velasquez JC, Rodriguez CM, Bessen RA, Rockel TE (2011). Degradation of the disease-associated prion protein by a serine protease from lichens. *PLoS One*. 6(5): e19836-e19837.
- Karagoz A, Dogruoz N, Zeybek Z, Aslan A (2009). Antibacterial activity of some lichen extracts. *J. Med Plants Res*. 3: 1034-1039.
- Kirmizigul S, Koz O, Anil Hand Icli S (2003). Isolation and structure elucidation of novel natural products from Turkish lichens. *Turk J Chem*. 27: 493-500.
- Kosanic M, Branislav RR, Tatjana PS (2012b). Antioxidant, antimicrobial and anticancer activities of three *Parmelia* species, *J Sci Food Agric*. 92: 1909-1916.
- Kosanic M, Rankovic B (2011). Antibacterial and antifungal activity of different lichens extracts and lichen acid. *Res. J. Biotechnol*. 6: 23-26.
- Kosanic M, Rankovic B, Stanojkovic T (2012a). Antioxidant, antimicrobial and anticancer activity of 3 *Umbilicaria* species. *J. Food Sci*. 77: 20-25.
- Kosanic MM, Branislav RR, Tatjana PS (2011). Antioxidant, antimicrobial and anticancer activities of three *Parmelia* species, *J. Sci. Food Agric*. 92: 1909-1916.
- Liu B, Liu Y, Li J, Gu RW, Ping L, Feifei L (2014). Aromatic lichen resources in Guizhou Province, China. *Med Aromat Plants*. 3(1): 1-3.
- Luo H, Wei X, Yamamoto Y, Liu Y, Wang L, Jung JS, Koh YJ, Hur J (2010). Antioxidant activities of edible lichen *Ramalina conduplicans* and its free radical-scavenging constituents. *Mycoscience*. 51: 391-395.
- Malhotra S, Subban R, Singh AP (2008). Lichens role in traditional medicine and drug discovery. *The Internet Journal of Alternative Medicine*. 5(2). <http://ispub.com/IJAM/5/2/4012>.
- Manojlović N, Ranković B, Kosanić M, Vasiljević P, Stanojković T (2012). Chemical composition of three *Parmelia* lichens and antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of some their major metabolites. *Phytomedicine*. 19(13): 1166-1172.
- Manojlovic N, Vasiljevic P, Gritsanapan W, Supabphol R, Manojlovic I (2010a). Phytochemical and antioxidant studies of *Laurera benguelensis* growing in Thailand. *Biol. Res*. 43: 169-176.
- Manojlovic N, Vasiljevic P, Juskovic M, Najman S, Jankovic S, Milenkovic-Andjelkovic A (2010b). HPLC analysis and cytotoxic potential of extracts from the lichen, *Thamnotia vermicularis* var *Subuliformis*. *J. Med. Plants Res*. 4: 817-823.
- Marijana K, Nedeljko M, Branislav R, Tatjana S, Perica V (2014). Biological activities and chemical composition of lichens from Serbia. *EXCLI Journal*. 13: 1226-1238.
- Marijana K, Nedeljko M, Slobodan J, Tatjana S, Branislav R (2013). Evernia prunastri and Pseudoevernia furfuraceae lichens and their major metabolites as antioxidant, antimicrobial and anticancer agents, *Food and Chemical Toxicology*. 53: 112-118.
- Marijana K, Branislav R and Slobodan S (2010). Antimicrobial activity of the lichen *Lecanora frustulosa* and *Parmeliopsis hyperopta* and their divaricatic acid and zeorin constituents. *African Journal of Microbiology Research*. 4: 885-890.
- Masada Y (1976). Analysis of Essential Oils by Gas Chromatography and Mass Spectrometry. Halsted, Nueva York, 34 p.
- McLafferty FW, Stauffer DB (2004). Wiley Registry of Mass Spectral Data, (6th electronic Ed). with NIST02, Wiley, New York, USA.
- NIST (2002). Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System, Ver. 2.1, DTRA.
- Ozen T, Kinalioglu K (2008). Determination of antioxidant activity of various extracts of *Parmelia saxatilis*. *Biologia*. 63(2): 211-216.
- Pavlovic V, Stojanovic I, Jadranin M, Vajs V, Djordjevic I, Smelcerovic A, Stojanovic G (2012). Effect of four lichen acids isolated from *Hypogymnia physodes* on viability of rat thymocytes. *Food Chem. Toxicol*. 9(51): 160-164.
- Rankovic BR, Marijana KM, Tatjana SP (2011). Antioxidant, antimicrobial and anticancer activity of the lichens *Cladonia furcata*, *Lecanora atra* and *Lecanora muralis*. *BMC Complement Altern Med*. 11: 97.
- Rankovic B, Rankovic D, Kosanic M, Maric D (2010).

- Antioxidant and antimicrobial properties of the lichens *Anaptychia ciliaris*, *Nephroma parile*, *Ochrolechia tartarea* and *Parmelia centrifuga*. *Cent. Eur. J. Biol.* 5: 649-655.
- Ritika C, Jayanthi A (2013). *In Vitro* Antimicrobial Potential of the Lichen *Parmotrema* sp. Extracts against Various Pathogens, *Iran J. Basic. Med. Sci.* 16(7): 882-885.
- Seymour FA, Crittenden PD, Dickinson MJ, Paoletti M, Montiel D, Cho L. and Dyer PS (2005). Breeding systems in the lichen-forming fungal genus *Cladonia*. *Fungal Genet. Biol.* 42: 554-563.
- Stanly C, Dafaalla MHA, Chan LK, Peng-Lim B, Arvind B (2011). Comparative evaluation of antioxidant activity and total phenolic content of selected lichen species from Malaysia. *J. Pharm. Res.* 4(8): 2824-2827.
- Stojanovic IŽ, Niko SR, Tatjana LJM, Slavisa MS, Gordana SS (2011). Volatile constituents of selected *Parmeliaceae* lichens, *J. Serb. Chem. Soc.* 76(7): 987-994.
- Süleyman H, Yildirim D, Aslan A, Göçer F, Gepdiremen A Güvenalp Z (2002). An investigation of inflammatory effects of an extract from *Cladonia rangiformis* (Hoffm.). *Biological & Pharm. Bulletin.* 25: 1013.
- Tahereh V, Minoo S (2015). Antibacterial and Antifungal Activities of Gelatinose and non-Gelatinose Lichen Species, *J. Arch. Mil. Med.* 3(4): e31610.
- Tatjana M, Slaviša S, Vladimir C, Niko R, Marko M, Milan S, Marina T, Ivana R, Olgica S, Sava V, Ljiljana C (2014). *Platismatia glauca* and *Pseudevernia furfuracea* lichens as sources of antioxidant, antimicrobial and antibiofilm agents, *EXCLI Journal.* 13: 938-953.

الملخص

إن تقييم شدة التلوث البيئي من خلال المراقبة الحيوية عن طريق الجمع بين منهجين التراكم البيولوجي و التأثير البيولوجي. من خلال خصائصها الفسيولوجية و الخارجية ، الأشنات أثبتت فعاليتها وخاصة بقدرتها على تراكم الملوثات مثل المعادن الثقيلة مثل الكوبالت الكروم نحاس حديد النيكل زنك رصاص. في هذه الدراسة، تم استخدام صنف من الأشنة الورقية *Xanthoria paritina*. لقياس تراكم المعادن الثقيلة المنبعثة من مصادر بشرية المنشأ مثل حركة المرور في ولاية سطيف. إن النتائج المتحصل عليها تبين بشكل واضح نسب تركيز عالية بنسبة للجمع المعدن خاصة الرصاص. من أجل اظهار كمية التلوث قمنا بإجراء عدة خرائط لنسبة التلوث بالنسبة لكل صنف من المعادن المدروسة. تم الحصول على بيانات جديدة عن حساسية الأنواع الأشنة من الملوثات من خلال مؤشرات التنوع البيولوجي التأثير البيولوجي بالإضافة إلى التحليلات الإحصائية متعددة المتغيرات. أجريت دراسة كيميائية نباتية على الأشنات *Evernia prunastr* و *Ramalina farinacie*. عن طريق استخراج الزيوت الأساسية لنوعين من الأشنة بواسطة التقطير المائي. تم تحليل التركيب الكيميائي للزيوت الأساسية لأنواع الأشنة بواسطة GC و GC / MS و حدد التحليل 32 مركباً *Evernia prunastr* و 34 مركباً *Ramalina farinacie* وجود اختلاف كيميائي بين هذه الأنواع. تقييم النشاط المضاد للميكروبات للزيوت الأساسية للأشنات اظهر تأثيراً ضعيفاً نسبياً على جميع البكتيريا التي تم اختبارها.

الكلمات المفتاحية التلوث ، الأشنات ، المعادن ، التراكم الحيوي ، التأثير الحيوي ، الزيت العطري ، التركيب الكيميائي ، نشاط مضادات الميكروبات ، سطيف

Résumé

L'évaluation de l'intensité de la pollution à travers la biosurveillance a été effectuée en couplant les deux approches de bioaccumulation et de bioindication. Par leurs caractéristiques physiologiques et morphologiques, les lichens s'avèrent très efficaces pour répondre à cette problématique notamment leur capacité à accumuler les contaminants en l'occurrence les éléments traces métalliques (Co, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb et Zn). Le lichen *Xanthoria paritina* est utilisé, dans cette étude, en tant que bio-moniteur passive des éléments traces métalliques qui sont émis par des sources anthropiques comme le transport routier dans la wilaya de Sétif. L'enregistrement des éléments traces par les lichens indique une forte contamination notamment par le Pb. Afin d'apprécier la repartition spatiale de cette pollution, il a été élaboré une série de cartes de pollution pour chaque élément métallique.

De nouvelles données concernant la sensibilité des espèces lichéniques face aux polluants ont obtenues à partir des indices de biodiversité et de bioindication couplés à des analyses statistiques multivariées.

Une étude phytochimique sur les lichens a été réalisée par l'extraction des huiles essentielles de deux espèces lichéniques : *Evernia prunastr* et *Ramalina farinacie* par hydro distillation. La composition chimique des huiles essentielles des espèces de lichen a été analysée par GC et GC/MS L'analyse a permis d'identifier 32 composés pour *Evernia prunastri* et 34 composés pour *Ramalina farinacie* avec la présence d'une variabilité interspécifique importante, L'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles deux espèces des lichens a montré un effet relativement faible contre toutes les bactéries testées.

Mots clefs pollution, lichens, métaux, bioaccumulation, bioindication, Huile essentielle, Composition chimique, Activité antimicrobienne, Sétif

Abstract

The assessment of the intensity of pollution through biomonitoring by coupling the two approaches of bioaccumulation and bioindication. By their physiological and morphological characteristics, the lichens are very effective to answer to this problem in particular their capacity to accumulate the contaminants in this case the metallic trace elements (Co, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb and Zn). In this study, lichen *xanthoria paritina* is used as a passive bio-monitor for metallic trace elements emitted by anthropogenic sources such as road transport in the province of Sétif. The registration of trace elements by organisms indicates a high level of contamination, particularly by Pb. In order to assess the spatial distribution of this pollution, a series of pollution maps for each metal element has been developed. New data on the sensitivity of lichen species to pollutants were obtained from biodiversity and bioindication indices coupled with multivariate statistical analyzes. A phytochemical study on lichens was carried out by extracting the essential oils of two lichen species: *Evernia prunastr* and *Ramalina farinacie* by hydro distillation. The chemical composition of the essential oils of the lichen species was analyzed by GC and GC / MS. The analysis identified 32 compounds for *Evernia prunastri* and 34 compounds for *Ramalina farinacie* with the presence of significant interspecific variability. The evaluation of the antimicrobial activity of the two lichen species essential oils showed a relatively weak effect against all bacteria tested.

Keywords: pollution, lichens, metals, bioaccumulation, bioindication, essential oil, chemical composition, antimicrobial activity, setif