



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de microbiologie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة  
قسم الميكروبيولوجي

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : écologie et environnement

Spécialité : écologie microbienne

Intitulé :

**Caractérisation de la flore phyllosphérique du fruit de la vigne**

Présenté par : NINI Malek  
SLIMANI Ikram

Le : 22/09/2021

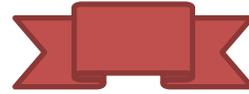
**Jury d'évaluation :**

<b>Président :</b>	Mr. KITOUNI Mahmoud	Professeur-UFMC1
<b>Encadreur :</b>	Mr. BENHIZIA Yacine	Professeur-UFMC1
<b>Co-encadreur :</b>	Mme. DEKKICHE Samia	MCB-U Btana2
<b>Examinatrice :</b>	Mme. GUERGOURI Ibtissem	MAA-UFMC1

Année universitaire : 2020/2021



## REMERCIEMENTS



La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui nous voudrions témoigner toute notre gratitude et notre respect.

Nous voudrions tout d'abord adresser toute notre reconnaissance à notre directeur de mémoire, Monsieur Yacine BENHIZIA ; pour nous avoir fait découvrir le sujet, pour le temps qu'il a consacré à nous apporter les outils méthodologiques indispensables à la conduite de cette recherche. Son exigence nous a grandement stimulées. Nous le remercions de nous avoir encadrées, orientées, aidées et conseillées.

Nous remercions également Madame Samia DEKKICHE ; pour avoir partagé ses connaissances et expériences et pour son aide dans la réalisation de ce mémoire.

Merci à Madame Houda ; pour sa rigueur, sa disponibilité, pour ses multiples conseils et les efforts déployés afin de nous assurer un travail de qualité.

Un grand merci pour Monsieur Mahmoud KITOUNI ; d'avoir accepté de presider notre jury et à Madame Ibtissem GUERGOURI pour avoir accepté d'examiner et d'évaluer notre travail.

L'enseignement de qualité dispensé par le Master « Ecologie microbienne » a également su nourrir notre réflexion et a représenté une profonde satisfaction intellectuelle. Nous désirons donc aussi remercier l'ensemble de nos enseignants de l'université de Constantine 1, faculté de biologie, qui nous ont fourni les outils nécessaires à la réussite de nos études universitaires.

## **Dédicace 1**

Je tiens à remercier mes chers parents pour leur amour et soutien permanent, constant et surtout sans aucune faille ; avec la patience et la confiance que vous avez toujours placées en moi, vous m'avez permis d'avancer en toute quiétude. J'espère qu'ils trouveront en ce modeste travail une récompense de ce qu'ils ont fait pour moi.

Je remercie également ma sœur et mes frères pour leurs encouragements.

Enfin, je remercie mes amies qui ont toujours été là pour moi. Leur soutien inconditionnel et leurs encouragements ont été d'une grande aide.

## **Dédicace 2**

Je dédie ce mémoire à :

Mes très chers parents mille dédicaces n'exprimeront pas assez mes sentiments, merci pour votre patience illimitée, et vos encouragements durant mon parcours universitaire. Votre présence à mes côtés pour m'encourager, me soutenir et me guider me donne de la force au quotidien pour affronter tous les obstacles.

Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.

A mes deux sœurs Amel et Chorouk, ma source de joie et de bonheur, les seules personnes qui me poussent à aller toujours plus loin et qui sont toujours à mes côtés dans les moments difficiles.

A mes chères amies, et mes cousines qui m'ont soutenue et encouragé durant cette période.

# Table des matières

<b>Introduction Générale .....</b>	<b>2</b>
<b>1 Chapitre 1 : Présentation de la vigne.....</b>	<b>4</b>
1.1 Historique.....	4
1.2 Cycle et facteurs pédoclimatiques .....	4
1.3 Phyllosphère et colonisation endophytes et épiphytes .....	5
1.3.1 Les endophytes.....	6
1.3.2 Les épiphytes.....	6
1.4 Colonisation microbienne du fruit (la baie de raisin).....	7
1.4.1 Les levures.....	7
1.4.2 Les champignons.....	8
1.4.3 Les bactéries.....	8
<b>2 Chapitre 2 : Site d'étude, matériel et méthodes .....</b>	<b>11</b>
2.1 Caractéristiques du site d'étude.....	11
2.2 Choix des points de prélèvement .....	13
2.3 Prélèvement des échantillons.....	13
2.4 Cultures et isolement .....	14
2.5 Au laboratoire .....	14
2.5.1 Etape 1.....	14
2.5.2 Etape 2.....	15
2.5.3 Etape 3.....	16
2.5.4 Etape 4.....	17
<b>3 Chapitre 3 : Interprétation des Résultats .....</b>	<b>20</b>
3.1 Diversité bactérienne à la surface des baies de raisin.....	20
3.2 Techniques d'identification : critères d'identification microscopique et macroscopique .....	20

<b>3.2.1 Critères d'identification macroscopique .....</b>	<b>20</b>
<b>3.2.2 Critères d'identification microscopique.....</b>	<b>20</b>
<b>3.3 Première lecture.....</b>	<b>20</b>
<b>3.4 Deuxième lecture.....</b>	<b>24</b>
<b>3.5 Calculs des résultats en UFC .....</b>	<b>26</b>
<b>3.6 Caractères phénotypiques (coloration de Gram et bleu de Méthylène).....</b>	<b>28</b>
<b>3.6.1 Coloration de Gram .....</b>	<b>28</b>
<b>3.6.2 Coloration au bleu de Méthylène .....</b>	<b>29</b>
<b>3.7 Test antifongique (Fungezone) .....</b>	<b>30</b>
<b>Discussion.....</b>	<b>33</b>
<b>Conclusion générale.....</b>	<b>35</b>
<b>Références bibliographique.....</b>	<b>37</b>

## Liste des figures

<b>FIGURE 1.</b> GRAPPE DE RAISIN RED GLOB.....	11
<b>FIGURE 2.</b> L'EXPLOITATION DU RAISIN RED GLOB.....	11
<b>FIGURE 3.</b> LE SYSTEME D'ARROSAGE ; LE GOUTE A GOUTE. ....	12
<b>FIGURE 4.</b> DES PIEDS DE LA PERGOLA.....	12
<b>FIGURE 5.</b> REGION NORD. ....	13
<b>FIGURE 6.</b> REGION SUD.....	13
<b>FIGURE 7.</b> SCHEMA REPRESENTANT LES POINTS DE PRELEVEMENT.....	133
<b>FIGURE 8.</b> 20 BAIES PROVENANT DE L'ECHANTILLON DE LA REGION NORD.....	15
<b>FIGURE 9.</b> AGITATION DE LA SOLUTION DE BN CONTENANT LES BAIES. ....	16
<b>FIGURE 10.</b> LES DILUTIONS DE LA SOLUTION MERE. ....	16
<b>FIGURE 11.</b> LES REPETITIONS DE CHAQUE DILUTION ET LA SOLUTION MERE. ....	17
<b>FIGURE 12.</b> DEUX TUBES DE BN L'UN CONTENANT UN ANTIFONGIQUE ET L'AUTRE SANS ANTIFONGIQUE.....	18
<b>FIGURE 13.</b> RESULTATS APRES 48H D'INCUBATION DES 3 REPETITIONS DE LA SOLUTION MERE. .....	21
<b>FIGURE 14.</b> RESULTATS APRES 48H D'INCUBATION DES 3 REPETITIONS DE LA DILUTION $10^{-1}$ . ..	21
<b>FIGURE 15.</b> RESULTATS APRES 48H D'INCUBATION DES 3 REPETITIONS DE LA DILUTION $10^{-2}$ . ..	22
<b>FIGURE 16.</b> RESULTATS APRES 48H D'INCUBATION DES 3 REPETITIONS DE LA DILUTION $10^{-3}$ . ..	22
<b>FIGURE 17.</b> APPARITION D'UN TROUBLE DANS LES 3 DILUTIONS APRES 48H. ....	23
<b>FIGURE 18.</b> RESULTATS APRES 5 JOURS D'INCUBATION DES 3 REPETITIONS DE LA SOLUTION MERE. ....	24
<b>FIGURE 19.</b> RESULTATS APRES 5 JOURS D'INCUBATION DES 3 REPETITIONS DE LA DILUTION $10^{-1}$ . .....	24
<b>FIGURE 20.</b> RESULTATS APRES 5 JOURS D'INCUBATION DES 3 REPETITIONS DE LA DILUTION $10^{-2}$ .....	25
<b>FIGURE 21.</b> RESULTATS APRES 5 JOURS D'INCUBATION DES 3 REPETITIONS DE LA DILUTION $10^{-3}$ . .....	25
<b>FIGURE 22.</b> APPARITION D'UN TROUBLE PLUS DENSE DANS LES 3 DILUTIONS APRES 5 JOURS. ..	26
<b>FIGURE 23.</b> APPARITION D'UN TROUBLE DANS LES TUBES CONTENANT L'AF ET SANS AF DE TOUTES LES DILUTIONS APRES 3 JOURS D'INCUBATION.....	31

**FIGURE 24.** RESULTATS APRES 3 JOURS D'INCUBATION DE L'ENSEMENCEMENT SUR MILIEU GN  
DES TUBES DE BN CONTENANT UNE SOLUTION ANTIFONGIQUE ET SANS ANTIFONGIQUE DES  
DIFFERENTES DILUTIONS.....31

## **Liste des tableaux**

<b>TABLEAU 1.</b> RECAPITULATIFS DES RESULTATS DES DILUTIONS APRES 48H. ....	23
<b>TABLEAU 2.</b> RECAPITULATIF DES CALCULS DES RESULTATS EN UFC APRES 48H. ....	27
<b>TABLEAU 3.</b> RECAPITULATIF DES CALCULS DES RESULTATS EN UFC APRES 5 JOURS. ....	27
<b>TABLEAU 4.</b> RECAPITULATIF DES RESULTATS DE L'OBSERVATION AU MICROSCOPE OPTIQUE X100 APRES UNE COLORATION DE GRAM DES DIFFERENTES COLONIES.....	28
<b>TABLEAU 5.</b> RECAPITULATIF DES RESULTATS DE L'OBSERVATION AU MICROSCOPE OPTIQUE X40 APRES COLORATIONS AU BLEU DE METHYLENE DES DIFFERENTES COLONIES. ....	30

## Liste des abréviations

**BN** : Bouillon Nutritif

**GN** : Gélose Nutritive

**AF** : Anti-Fongique

**SM** : Solution Mère

# **Introduction Générale**

## **Introduction Générale**

La vigne, culture ancestrale et véhicule d'un art de vivre. C'est l'une des cultures les plus anciennes de l'Afrique du Nord et de l'Algérie en particulier, elle est cultivée pour ses fruits, les baies de raisin. On distingue la vigne dite de "table" et la vigne dite de "cuve" ; utilisées pour la production de vin, de raisin de table et de raisins secs.

La vigne est un hôte naturel d'une grande variété de micro-organismes procaryotes et eucaryotes colonisant l'intérieur des tissus végétaux ou qui se répartissent à la surface de ses parties aériennes (Prashant et al., 2018). La dynamique et la diversité de ses populations microbiennes dépendent de facteurs biotiques et abiotiques (tels que le climat, les pratiques culturales...etc) (Renouf et al., 2008).

Toutes les espèces végétales y compris les vignes ont une microflore épiphyte comprenant ce qu'on appelle la phyllosphère ; qui est un environnement favorable pour de nombreux micro-organismes où les bactéries sont considérées comme les habitants microbiens les plus dominants. Ces bactéries peuvent favoriser la croissance des plantes et à la fois supprimer la colonisation et l'infection des tissus par des agents pathogènes (Lindow et Brandl 2003 ; Rasche et al., 2006 ; Whipps et al., 2008). Ces interactions microbiennes peuvent affecter l'aptitude des plantes dans les communautés naturelles, la productivité des cultures agricoles et la sécurité des produits horticoles pour la consommation humaine ( Whipps et al., 2008).

De nombreuses questions liées à cet habitat microbien sont toujours sans réponse. Peu de travaux sont consacrés à l'étude de l'origine, de la composition de l'écosystème microbien de la baie et des facteurs environnementaux susceptibles d'interagir sur son évolution.

Ce projet de recherche a donc pour objectif principal de décrire la dynamique et la diversité des populations bactériennes de la baie de raisin, ces données doivent contribuer à une meilleure compréhension de l'écologie des communautés microbiennes présentes sur cet habitat.

Les travaux de ce mémoire ont été réalisés au sein du laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire, université frères Mentouri Constantine 1.

# **Chapitre 1**

## **PRESENTATION DE LA VIGNE**

# **1 Chapitre 1 : Présentation de la vigne**

## **1.1 Historique**

Les vignes comptent parmi les plantes les plus anciennes de la terre. Elles étaient là bien avant l'homme et sont connues pour avoir contribué aux mythologies, aux religions et aux traditions (Inconnu, 2020).

Symbole, comme l'olivier, du paysage et de la civilisation méditerranéenne, la vigne est partie à la conquête du monde, elle s'est implantée partout où elle a trouvé le climat physique et humain propice à son développement. Depuis les temps anciens 3.000 à 4.000 ans avant J.C l'Afrique du Nord produisait des vins qu'elle exportait vers les territoires longeant la méditerranée. L'archéologie et les anciens auteurs ont bien démontrés que la vigne était cultivée couramment dans les pays qui forment aujourd'hui la Tunisie, l'Algérie et le Maroc (Belhout, 1990).

La vigne fait donc partie des cultures les plus anciennes de l'Afrique du Nord et en particulier de l'Algérie. L'histoire viticole algérienne connaît deux apogées : la première période est antique, sous la domination de la Phénicie puis de l'Empire romain, la deuxième, date de la colonisation française, suite à la guerre d'Alger en 1830. (Belaid, 2017). A cette période, les vignes ne couvraient en Algérie que quelque 2000 ha, concentrés essentiellement dans l'Oranie, dans les jardins des villes, leur périphérie et dans les montagnes de Mascara, de Mostaganem et du Dahra... (Bessaoud, 2014). Elle se localise dans les meilleures terres, à s'avoir les plaines de l'Oranie, de la Mitidja et de la Kabylie (Mahboub, 2017).

## **1.2 Cycle et facteurs pédoclimatiques**

Avant de donner du raisin, la vigne passe par divers stades de développement. Parmi les différents stades phénologiques, on en compte trois qui sont particulièrement importants pour la description du cycle de la vigne : le débourrement, la floraison et la véraison. Le début du cycle végétatif est marqué par le débourrement, le début du cycle reproducteur par la floraison et le début du processus de maturation par la véraison (Duchêne et al., 2010). La date d'apparition ainsi que la durée de ces stades peuvent varier (Parker et al., 2011). Chaque vigne a sa propre histoire et sa propre trajectoire de croissance et de maturité, en fonction de

son âge, de son exposition, de son sol, de son climat et des pratiques culturelles associées (Goutouly, 2017).

Quelques-uns de ces facteurs touchent fortement la physiologie de la vigne, sa croissance, son développement et l'élaboration de son rendement (Goutouly, 2017) ainsi que sa communauté microbienne qui dépend tout d'abord de l'environnement qui sélectionne la flore initiale présente à la vigne et des conditions climatiques et naturelles (du sol, du cépage, du domaine, de la disponibilité en eau et en nutriments, de la température, de l'ensoleillement...) (Lamonce, 2014).

### **1.3 Phyllosphère et colonisation endophytes et épiphytes**

La phyllosphère constitue l'un des habitats microbiens les plus répandus sur terre pourtant moins étudié que la rhizosphère ou l'endosphère (Guilherme, 2012). Elle représente la partie aérienne de la plante. La phyllosphère est constituée d'une grande variété de micro-organismes à la fois eucaryotes et procaryotes qui interagissent avec la vigne (Prashant et al., 2018). Ils jouent également un rôle essentiel dans les processus liés au développement des plantes ; comme la protection contre les invasions pathogènes et des phytohormones de biosynthèse, ainsi que dans le rendement en fruits et la qualité du raisin (Prashant et al., 2018). C'est un habitat important et omniprésent pour les micro-organismes, il constitue un système ouvert que ces derniers peuvent envahir par migration depuis le sol, par les éclaboussures de pluie, le vent ou l'action humaine dans les pratiques agronomiques (Perazzolli et al., 2020). La phyllosphère abrite des communautés microbiennes complexes qui ont des fonctions cruciales, la séquestration du carbone (Bringel et Couée 2015), la dégradation des pesticides et des polluants organiques (Brandl et al., 2001 ; Kishore et al., 2005 ; Bulgarelli et al., 2013).

Ces communautés sont également connues pour vivre et prospérer sous des facteurs environnementaux difficiles et sévères et sont soumises à de multiples stress tels que le rayonnement UV, la pollution de l'air, et la fécondation de l'azote, ainsi que par des facteurs biotiques, comme les espèces de plantes et de micro-organismes envahissants (Perazzolli et al., 2014), ces facteurs, y compris la plante elle-même, déterminent la structure de la communauté microbienne associée à la vigne à un endroit géographique particulier (Vorholt, 2012).

La vigne est également colonisée par d'autres micro-organismes ubiquitaires qu'il s'agisse d'organismes vivant à la fois à l'extérieur (épiphytes) ou à l'intérieur (endophytes), notamment des bactéries, des champignons et des levures (Leveau et al., 2011).

### **1.3.1 Les endophytes**

Les endophytes peuvent coloniser diverses plantes et organes dont les organes reproducteurs. Ils sont omniprésents chez la plupart des espèces végétales soit de façon latente, soit colonisant activement, localement ou de façon généralisée les tissus des végétaux (Compant et al., 2011).

En général, les bactéries endophytes de la vigne proviennent de communautés bactériennes épiphytes de rhizosphères ou de phyllosphères, qui une fois à l'intérieur des tissus se propagent à travers le xylème et parcourent toute la plante pour atteindre divers organes comme le tronc, les sarments, les feuilles, les bourgeons et les fleurs et les baies (Hallmann et al., 1997). Elles peuvent également pénétrer dans les plantes par les blessures de taille de la vigne (West et al. 2010) ou à travers les stomates des feuilles (Whitelaw- Weckert et al. 2011).

La diversité de la communauté épiphyte est encore plus riche et abondante que celle des endophytes (Guilherme, 2012). La plupart des recherches menées sur les bactéries épiphytes de la vigne se sont concentrées sur les bactéries d'intérêt œnologique, comme les bactéries acétiques et lactiques, présentes dans la microflore des baies de raisin. Peu d'informations sont disponibles sur les effets de ces bactéries sur d'autres parties de la plante, comme les feuilles et l'écorce. Dans une étude récente, utilisant l'analyse de séquence à haut débit de l'ARNr 16s, (Leveau et Tech, 2013) ont montré que la communauté bactérienne sur les feuilles différait, à la fois en taille et en structure, de celle des baies. Ils ont également signalé une grande diversité de bactéries associées aux feuilles et aux raisins appartenant à des espèces connues pour être des promoteurs de croissance des plantes avec une activité significative contre les agents pathogènes de la vigne (Guilherme et al., 2013).

## 1.4 Colonisation microbienne du fruit (la baie de raisin)

Les études effectuées sur les communautés microbiennes de raisin s'adressent généralement aux baies, qui évoluent fortement selon le stade de maturation du raisin. Étant bien établi que les raisins mûrs abritent des populations microbiennes à des niveaux de  $10^4$ – $10^6$  UFC/g principalement des levures et diverses espèces de bactéries lactiques et acétiques (Fleet, 2003 ; Kantor et al., 2017).

### 1.4.1 Les levures

Les baies de raisin abritent une grande variété de levures, présentent à la surface. Les populations de levures sont réparties spatialement sur les baies (Belin, 1972) et les grappes (Rosini, 1982), et sont dynamiques au cours du développement des baies (Cadez et al., 2010). Leur dissémination est assurée par le vent, les insectes et l'homme à travers ses différentes interventions sur l'environnement (Barata et al., 2012 ; Ganter, 2006).

Les espèces de levures présentes sur la surface des baies de raisin sont significativement limitées en nombre et leur densité évolue au cours de la maturation du raisin (Sadoudi et al., 2002).

Les populations levuriennes cultivables sont faibles à raison de  $10^2$  à  $10^3$  UFC/g sur les raisins immatures puis croissent jusqu'à  $10^3$ – $10^5$  UFC/g au moment de la récolte (Renouf et al., 2005). Des populations dénombrées sur des baies en sur-maturation ou sur des raisins atteints de pourriture (ex : Botrytis) sont plus élevées et peuvent atteindre jusqu'à  $10^5$  et  $10^7$  UFC/g (Barata et al., 2008 ; Nisiotou et Nychas, 2007). L'évolution des populations de levures peut être liée à l'augmentation de la surface de la baie et à la disponibilité en nutriments (Sadoudi et al., 2002).

Au cours de la maturation de la grappe, les baies grossissent, la teneur en nutriments à la surface augmente, la concentration en sucre augmente et l'acidité diminue (Cadez et al., 2010 ; Combina et al., 2005).

Les espèces présentes sur des baies intactes non endommagées après véraison et jusqu'à pleine maturité ont été rapportées comme appartenant principalement au groupe des levures basidiomycètes oxydatives telles que *Cryptococcus spp.*, *Rhodotorula spp.*, *Sporobolomyces spp.*, et *Filobasidium spp.*, ainsi qu'à la levure noire ascomycète dimorphe,

*Aureobasidium pullulans*. Dans le milieu viticole, ces levures sont typiquement associées à la phyllosphère, au raisin et au sol (Sadoudi et al., 2002).

La densité de population et la diversité des levures dans diverses régions étaient différentes car certaines espèces n'étaient trouvées que dans une seule région (Trevor et al. ; 2007).

Des études montrent que les levures, à la fois *Saccharomyces* et non-*Saccharomyces*, représentent une population mineure à la surface du fruit par rapport aux champignons filamenteux et aux bactéries (Teodorescu, 2019).

#### 1.4.2 Les champignons

Si l'écologie des levures et des bactéries lactiques a été largement étudiée, peu d'études se sont concentrés sur les populations fongiques de la vigne. Une des raisons est le manque de méthodes fiables et rapides (Filofteia, 2010).

La microflore fongique est très variée même sur des raisins d'apparence saine, et est présente en abondance et à des fréquences importantes. On en compte sept genres plus fréquemment retrouvés sur les raisins : *Alternaria spp.*, *Aspergillus spp.*, *Botrytis spp.*, *Cladosporium spp.*, *Epicoccum spp.*, *Penicillium spp.* et *Rhizopus spp.* (Rousseaux et al., 2013). D'autres genres et/ou espèces sont cependant isolés mais dans des proportions généralement plus faibles. La population de moisissures isolées, à partir de baies prélevées stérilement, est comprise entre  $6.2 \times 10^3$  et  $2 \times 10^6$  UFC et entre  $2 \times 10^3$  et  $1.8 \times 10^6$  UFC. Ces résultats sont en accord avec les quelques résultats décrits dans la littérature (Serra et al 2005).

Le nombre restreint de travaux, ayant étudié la diversité fongique des raisins, ont porté sur l'identification de champignons spécifiques (*Aspergillus*, *Botrytis*, *Penicillium*) mais peu d'études ont été menées sur la caractérisation et l'identification des communautés fongiques présentes sur les raisins (Rousseaux et al., 2013).

#### 1.4.3 Les bactéries

En ce qui concerne les bactéries, leur présence dans/sur les baies de raisin est depuis longtemps étudiée (Lafon-Lafourcade et al., 1983). Les premiers travaux sur les communautés

bactériennes de la baie de raisin se sont intéressés à des populations spécifiques comme les bactéries lactiques (Lafon-Lafourcade et al., 1983) et les bactéries acétiques (Guilherme, 2012).

Un large éventail d'espèces bactériennes colonise naturellement la surface des baies principalement les bactéries lactiques et acétiques. Les populations bactériennes apparaissent, tout au long du développement du raisin, avec des niveaux de populations beaucoup moins élevés que ceux des levures et des moisissures à la surface des baies. Sur les baies non mures, les populations sont très faibles de l'ordre de  $10^1$  à  $10^2$  UFC. g<sup>-1</sup> et elles augmentent avec la maturation du raisin (Filoftia, 2010).

Au moment des vendanges, elles peuvent atteindre des valeurs comprises entre  $10^2$  et  $10^4$  UFC.g<sup>-1</sup> et il semble que leur niveau soit inversement corrélé à celui des levures (Renouf, 2006). Leur population augmente lorsque les raisins sont atteints de pourriture (Bae et al., 2006).

Dans l'ensemble, les micro-organismes sont importants pour l'équilibre des écosystèmes, bien que l'on sache peu de choses sur l'ampleur et la variabilité de ces populations dans des conditions naturelles. En effet, la majorité des études caractérisant la diversité microbienne repose sur des approches microbiologiques classiques. Cependant, les techniques moléculaires indépendantes de la culture commencent maintenant à être élargies et la métagénomique, l'étude de tous les biotes indigènes à partir d'échantillons, représente un outil puissant pour évaluer les communautés microbiennes (Setati et al., 2012).

Grâce à des techniques telles que l'électrophorèse sur gel en gradient dénaturant et séquençage des amplicons du gène de l'ARNr 16S, il est maintenant réalisé que ces communautés microbiennes (également connues sous le nom de microbiote) sont plus complexes qu'on ne devrait le supposer sur la base des seuls organismes cultivable (Gilbert A et al., 2014).

À l'heure actuelle, nous sommes encore loin d'une compréhension claire de la façon dont des facteurs tels que la plante et l'environnement déterminent la composition des communautés microbiennes sur les surfaces végétales. On en sait encore moins sur l'impact de la composition de la communauté microbienne sur les divers services écosystémiques et les mauvais services que ces communautés fournissent (Gilbert et al., 2014)

## **Chapitre 2**

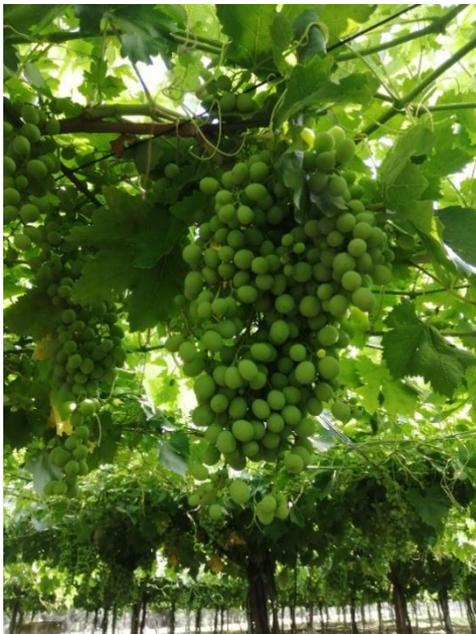
# **MATERIEL ET METHODES**

## 2 Chapitre 2 : Site d'étude, matériel et méthodes

### 2.1 Caractéristiques du site d'étude

Le site est une exploitation de raisin, implantée dans la région d'El Harrouche (skikda) depuis 2016. La plateforme s'étend sur 2 ha, on en compte 6000 vignes environ. Nous y trouvons des vignes à deux troncs, trois troncs et d'autres à quatre troncs. Les vignes à deux troncs sont considérées comme celles qui ont un meilleur rendement qualitativement et quantitativement selon le fellah qui nous a accueillis sur le site. L'entreprise produit deux variétés de raisin : le Red Glob et Victoria, et emploie 20 collaborateurs (fellahs) avec une moyenne de rendement de 300 tonnes par an environ.

Le développement des baies de raisin comprend une phase de croissance végétative et une phase de maturation. Notre étude a été réalisée en juin 2021, en cette période l'état de maturation du raisin Red Glob était plus avancé que celle de la variété Victoria. Après une phase de latence pendant laquelle la baie n'accumule plus d'assimilat, la phase de maturation commence par la véraison (Figure 1). Dans la figure 2, on peut observer l'exploitation du raisin Red Glob.



**Figure 1.** Grappe de raisin Red Glob. en phase de véraison



**Figure 2.** L'exploitation du raisin Red Glob.

Un système d'arrosage particulier ; chaque vigne a son propre système : le goutte à goutte, pour la distribution d'eau et de nutriments (Figure 3).

Système d'arrosage



**Figure 3.** Le système d'arrosage ; le goutte à goutte.

Pour protéger les vignes ; on utilise la Pergola, une construction spécifique utilisée pour servir de support à la vigne et pour ombrager délicatement la terrasse et ainsi éviter une forte exposition au soleil (Figure 4).



**Figure 4.** Des pieds de la Pergola.

Cette exploitation se présente sous forme rectangulaire ; on compte 24 lignes en longueur et 8 lignes en largeur. La région du nord se trouve en face d'une route et celle du Sud en face d'une autre exploitation. (Figure 5 et 6)



Figure 5. Région Nord.



Figure 26. Région Sud.

## 2.2 Choix des points de prélèvement

Nous avons effectué notre prélèvement au centre de l'exploitation, qui représente la 12<sup>ème</sup> ligne, en comptant le nombre de lignes de vignes verticalement, selon le schéma suivant (Figure 7) :

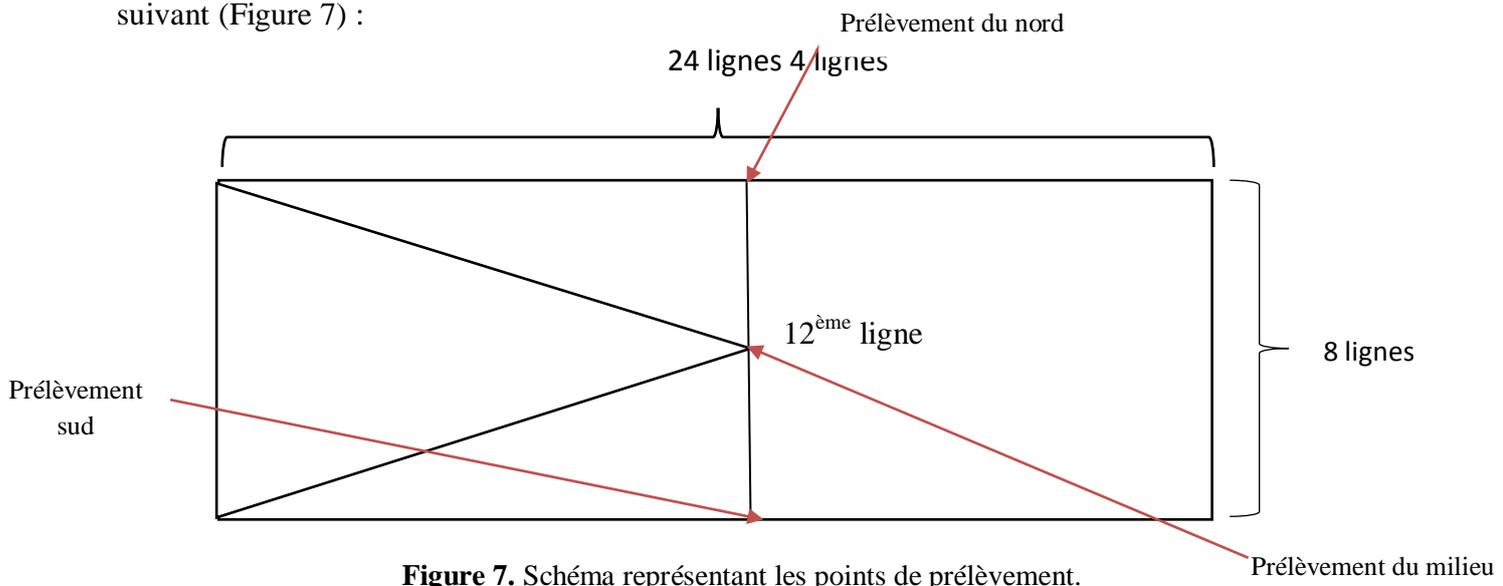


Figure 7. Schéma représentant les points de prélèvement.

## 2.3 Prélèvement des échantillons

Les prélèvements de troncs, de feuilles et de fruits provenant d'El Harrouch ont été réalisés en Juin 2021. Nous avons choisi arbitrairement 3 points de prélèvements (Le Nord, le

Sud et le centre de l'exploitation). Pour chacun de ces 3 points, 3 prélèvements de fruits ont été réalisés.

les fruits sont placés dans des sacs stériles. Pour éviter la contamination croisée, les outils d'échantillonnage ont été stérilisés avec de l'alcool avant chaque échantillon. Tous les échantillons ont été transportés au laboratoire dans une glacière, stockés à -20 °C au laboratoire et traités dans les 24 h. On totalise ainsi 3 échantillons par habitats, qui correspondent aux 3 prélèvements de troncs, de feuilles et de fruits effectués aux 3 points d'échantillonnage.

#### **2.4 Cultures et isolement**

L'évaluation quantitative de la population bactérienne dans cette étude repose sur l'utilisation des milieux de culture non sélectifs tels que le bouillon et la gélose nutritive (des supports nutritifs stériles apportant le divers élément nécessaire à la croissance). L'étalement d'un échantillon environnemental sur ces milieux, permet la multiplication des microorganismes visant soit à l'isolement clonal soit à l'estimation du nombre de microorganismes cultivables.

L'aspect quantitatif du développement des microorganismes sur milieux solide et liquide repose sur le principe qu'un microorganisme, après incubation, chaque cellule bactériennes déposée se multiplie et forme un amas (colonie) repérable macroscopiquement. Les résultats de dénombrements seront exprimés en Unité Formant Colonie (UFC) et en unité formant trouble. Le nombre de colonie renseigne sur la richesse bactérienne de l'échantillon.

#### **2.5 Au laboratoire**

##### **2.5.1 Etape 1**

- **Préparation des milieux de cultures (Bouillon nutritif)**

Nous avons pesé 13 à 15g de bouillon nutritif en poudre. Une première quantité d'eau distillée a été versée dans un Erlenmeyer de 1000ml ; nous avons versé la totalité de la poudre ensuite nous avons terminé avec le reste de l'eau distillée. La solution a été mise sous agitation pendant 15mn environ.

La quantité totale de 3 mL a été séparée en 2 : 1,5 mL a été versé dans des flacons de 250ml. L'autre moitié dans des tubes à vis. Pour finir nous avons stérilisé l'ensemble des tubes et des flacons à l'autoclave pendant 20mn à 120°C.

- **Préparation de l'eau physiologique**

Nous avons pesé 9g d'NaCl pour 1 L d'eau distillée en suivant les mêmes étapes de la préparation des milieux de culture.

### 2.5.2 Etape 2

- **Préparation de la solution mère et des dilutions**

Pour des raisons de temps, il n'a pas été possible d'étudier la totalité des échantillons au cours de ce travail et nous avons donc travaillé qu'avec l'échantillon provenant de la région Nord (La pesée des 3 échantillons de fruit provenant des 3 points de prélèvements a donné les résultats suivants (Tableau annexes)).

Nous avons sélectionné de manière aléatoire 20 baies (grains de raisins) des deux grappes de notre échantillon de 187,6g (Figure 8).



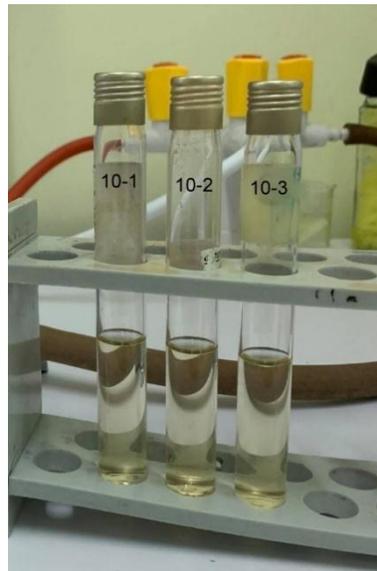
**Figure 8.** 20 baies provenant de l'échantillon de la région Nord.

Les baies sont mises à agiter pendant 1 h à 150rpm dans 150ml de bouillon nutritif afin de décrocher les bactéries se développant sur les tissus, appelées bactéries épiphytes. Et aussi pour maximiser le nombre de bactéries potentiellement cultivables (Figure 9).



**Figure 9.** Agitation de la solution de BN contenant les baies.

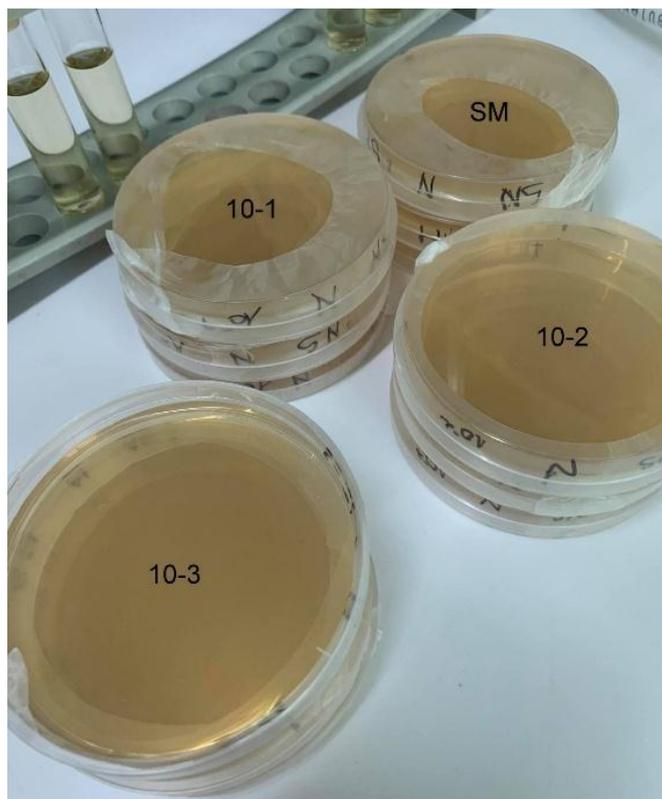
La solution de BN contenant les baies (solution mère), précédemment préparée, est diluée au 1/10 en cascade de  $10^{-1}$  à  $10^{-3}$  pour les bactéries épiphytes (Figure 10).



**Figure 10.** Les dilutions de la solution mère.

### 2.5.3 Etape 3

Enfin, 100 $\mu$ l de chaque dilution sont étalés sur de la gélose nutritive, avec 3 répétitions par dilution. Les boîtes de Pétri sont mises à incuber à l'étuve pendant 3 jours à 28 °C (Figure 11).



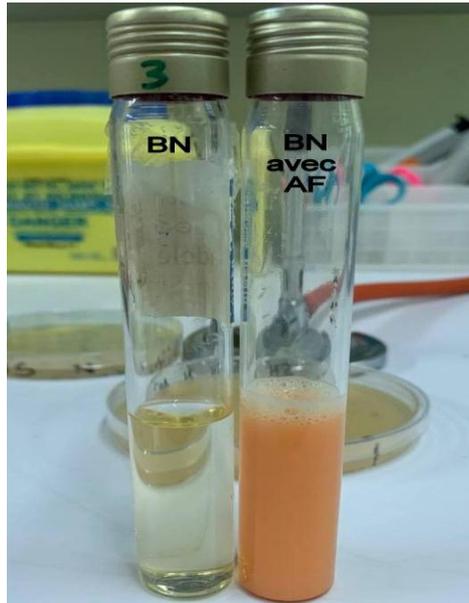
**Figure11.** Les répétitions de chaque dilution et la solution mère.

#### 2.5.4 Etape 4

Après écoulement du temps d'incubation, les 3 dilutions sont de nouveau mises en suspension sur BN sans solution antifongique et un autre tube de BN contenant un antifongique.

Le Fungizone a été utilisé afin de sélectionner que les bactéries en favorisant artificiellement leurs croissances et en inhibant celles des levures et des moisissures (Figure 12).

Après 3 jours d'incubation 0,5ml des tubes de BN contenant un antifongique et sans antifongique des différentes dilutions ont étéensemencées sur milieu GN.



**Figure 12.** Deux tubes de BN l'un contenant un antifongique et l'autre sans antifongique.

Une observation microscopique avec coloration de Gram et coloration au bleu de méthylène sont réalisées pour les différents d'isolats provenant de chaque boîte des différentes dilutions ( $10^{-1}$  à  $10^{-3}$  ainsi que la solution mère).

En parallèle, une stratégie de dénombrement du nombre d'unités formant colonie (UFC) a été mise en place, pour pouvoir comparer la cultivabilité des microorganismes dans chaque habitat.

## **Chapitre 3**

# **INTERPRETATION DES RESULTATS**

### 3 Chapitre 3 : Interprétation des Résultats

#### 3.1 Diversité bactérienne à la surface des baies de raisin

La compilation de la totalité des souches obtenues lors de l'analyse directe (après isolement) de l'ensemble des échantillons de raisin. Permet d'obtenir une vision relativement exhaustive de la diversité bactérienne présente à la surface. Plus de 617 isolats sont obtenus à partir des boîtes de cultures correspondant aux séries non diluées et diluées.

#### 3.2 Techniques d'identification : critères d'identification microscopique et macroscopique

L'identification des bactéries repose sur l'observation de critères morphologiques : d'une part par l'observation macroscopique (aspect, couleur et odeur des colonies) et d'autre part, par une observation microscopique.

##### 3.2.1 Critères d'identification macroscopique

**L'aspect des colonies :** les colonies peuvent être, lisses, muqueuses ou rugueuses.

**Le relief des colonies :** les colonies peuvent avoir un aspect plat, bombé, semi bombé ...

**La taille des colonies :** les colonies peuvent être petites 0.3-0.5 mm ou étendues 2-4 cm.

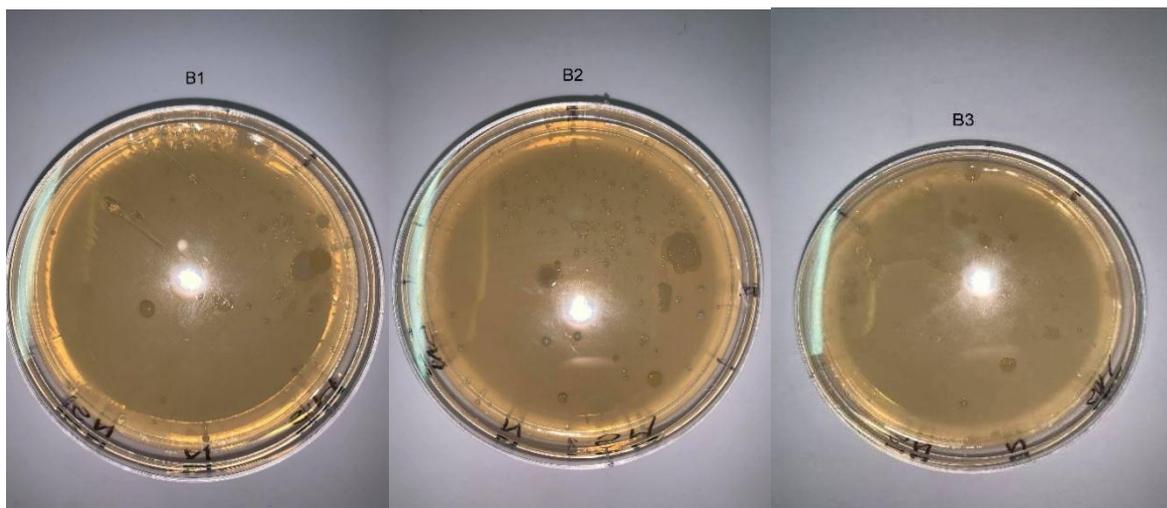
**La couleur des colonies :** est un élément très important d'identification ; les colonies peuvent être de couleur blanche, crème, jaune, orange, brune allant jusqu'au noir.

##### 3.2.2 Critères d'identification microscopique

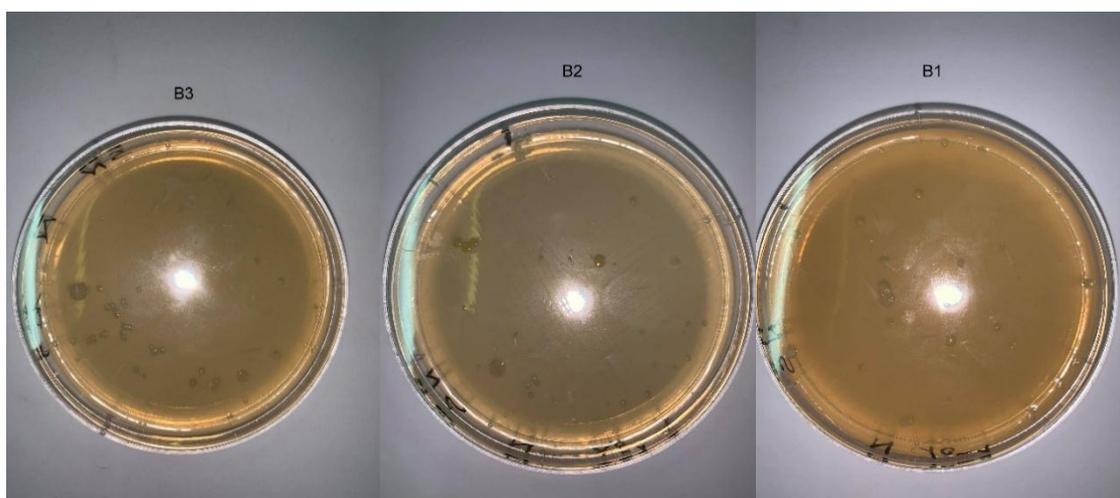
L'examen microscopique permet de faire une étude morphologique et de déterminer le mode de regroupement des microorganismes. Il comprend un examen après une coloration simple (bleu de méthylène) ou une coloration différentielle afin de classer les bactéries selon leur type de Gram. La répartition des bactéries en Gram<sup>+</sup> ou Gram<sup>-</sup> (selon leur affinité aux solvants) est un critère systématique important pour leur classification. Elle donne également des indications sur leurs formes et leur mode de groupement.

#### 3.3 Première lecture

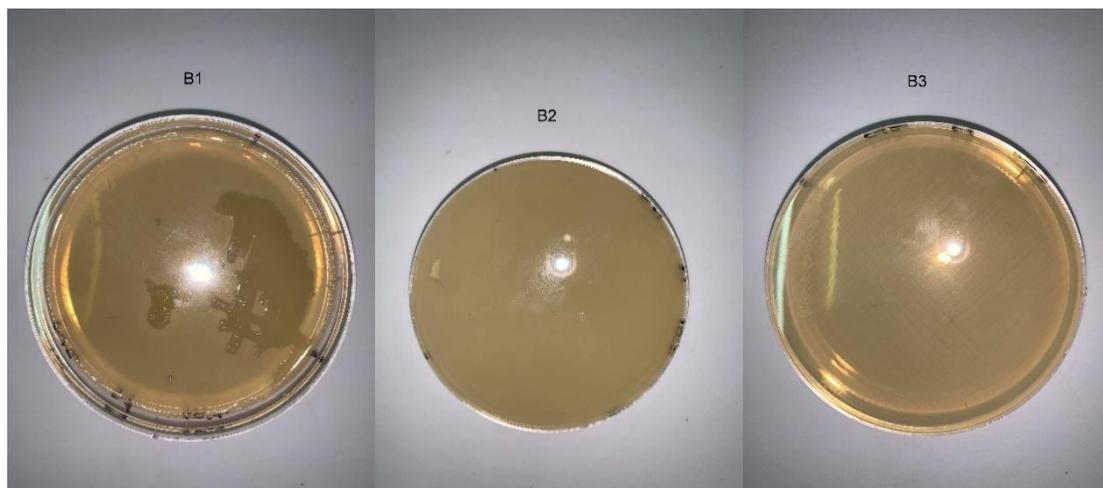
Résultats après 48h d'incubations des 3 répétitions de toutes les dilutions et de la solution mèreensemencés sur milieu GN (Figure : 13 ; 14 ; 15 ; 16).



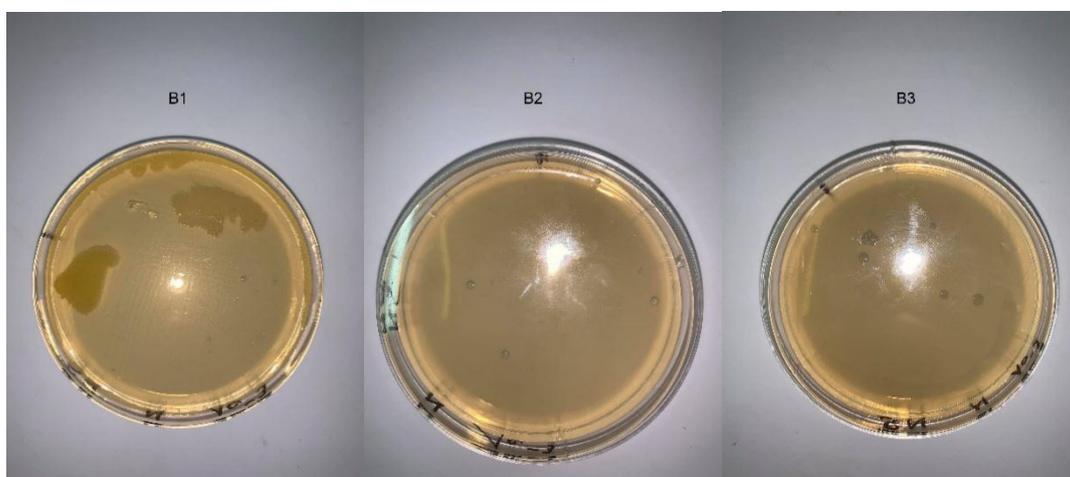
**Figure 13.** Résultats après 48h d'incubation des 3 répétitions de la solution mère.



**Figure 14.** Résultats après 48h d'incubation des 3 répétitions de la dilution  $10^{-1}$



**Figure 15.** Résultats après 48h d'incubation des 3 répétitions de la dilution  $10^{-2}$



**Figure 16.** Résultats après 48h d'incubation des 3 répétitions de la dilution  $10^{-3}$

Dans cette première lecture des résultats après une période d'incubation de 48h pour chaque culture, les boîtes contenant entre 30 à 300 colonies sont dénombrées et plus de 470 colonies sont obtenues.

Les figures représentent les différents morphotypes des souches isolées avec des couleurs allant du blanc au jaune. La majorité des isolats produisaient des colonies à forme ronde avec une marge lisse ou ondulée et de consistance sèche à crémeuse et visqueuse et de transparente à opaque.

Leur nombre renseigne sur la richesse bactérienne de l'échantillon ainsi que l'aspect des colonies varie avec les espèces est informe sur le nombre d'espèces présentes dans l'échantillon. (Tableaux annexes).

Des tubes témoins sont réalisés au début et en fin d'expérimentation, ils permettent ainsi de contrôler d'éventuelles contaminations et la viabilité de la concentration cellulaire pendant la période d'ensemencement.

Tube 1 + tube 2 + tube 3 : après 48h on observe l'apparition d'un trouble du milieu (la croissance d'un micro-organisme ou d'un groupe de microorganismes) dans les 3 dilutions de  $10^{-1}$  à  $10^{-3}$ . (Figure 17).



**Figure 17.** Apparition d'un trouble dans les 3 dilutions après 48h.

**Tableau 1.** Récapitulatifs des résultats des dilutions après 48h.

Dilutions	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$
Résultats	+	+	+
Chiffre égal à la somme des tubes positifs	1	1	1

Déduire la concentration en micro-organismes par ml du produit pur N :

**NPP = 1,1** (nombre le plus probable obtenu par lecture de la table de Mac Grady)

**Volume de l'inoculum = 1ml**

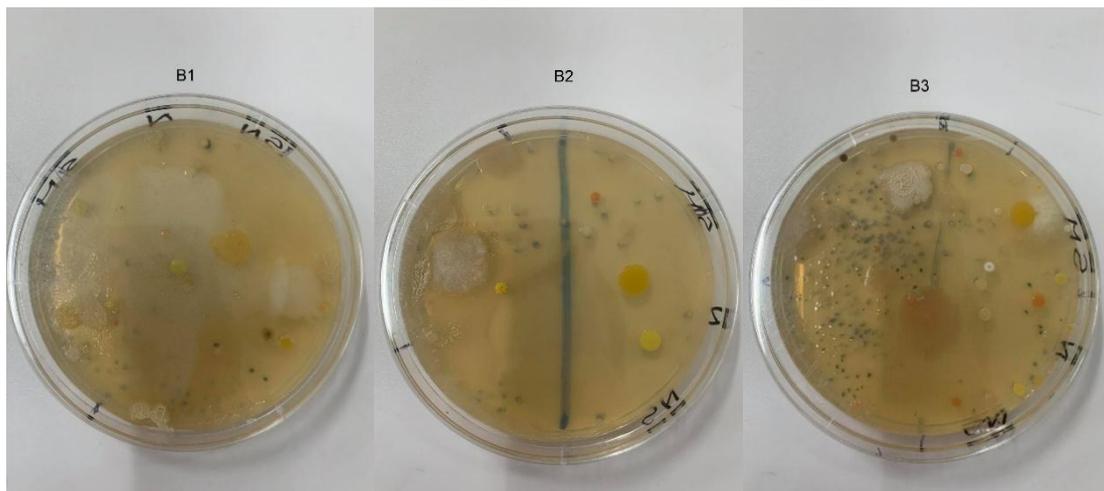
$$\boxed{N = \text{NPP} / V \text{ inoculum} * Fd}$$

**Fd** = facteur de la dilution correspondant au chiffre de centaines du nombre caractéristique  $10^{-3}$

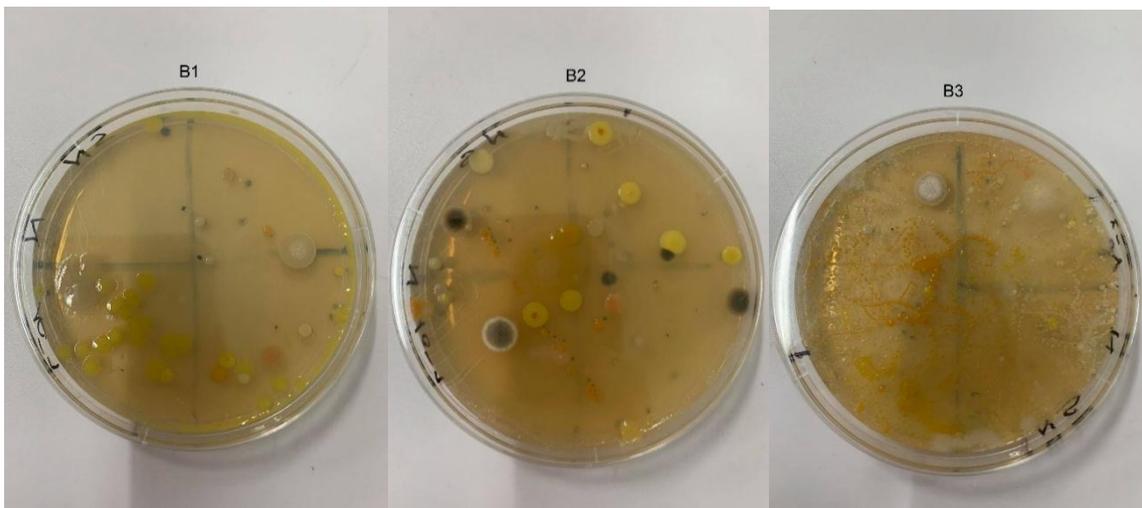
**N = 1 micro-organismes/ml**

### 3.4 Deuxième lecture

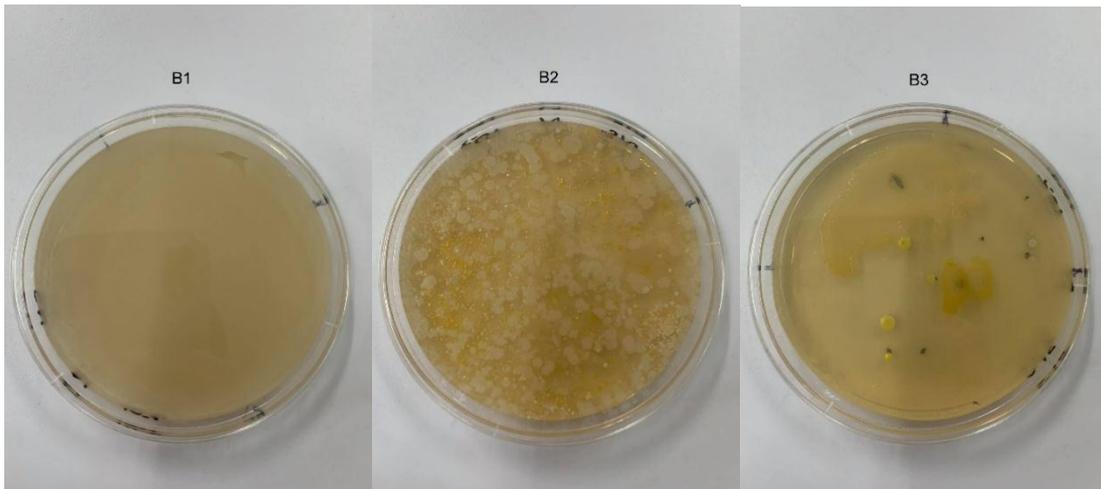
Dance cette 2<sup>ème</sup> lecture après 5 jours d'incubation on observe une augmentation importante de la taille de certaines colonies dans chacune des boites de toutes les dilutions avec un changement de couleurs ainsi que l'apparition de nouvelles colonies. On remarque également une forte odeur qui se dégage des boites dû à la prolifération des microorganismes. (Figure : 18 ; 19 ; 20 ; 21).



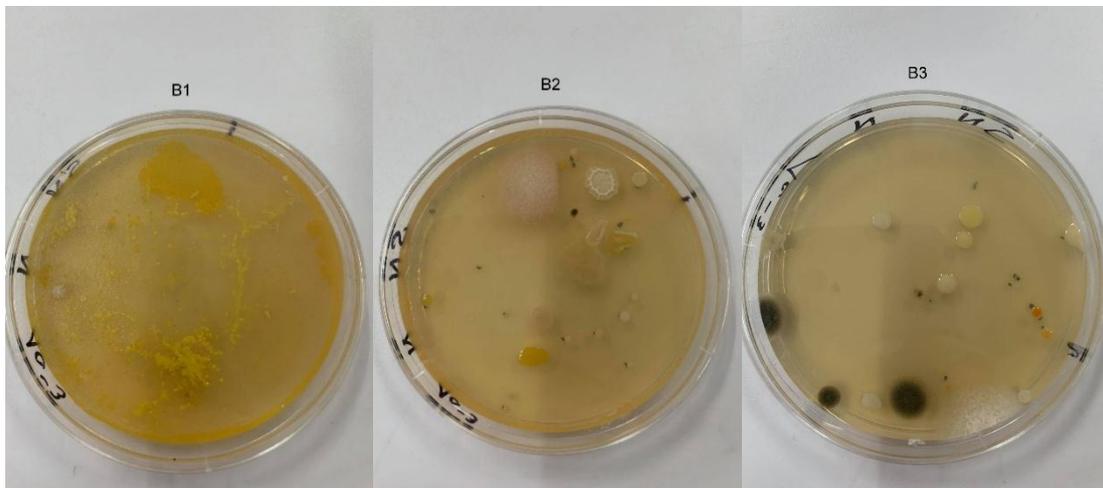
**Figure 18.** Résultats après 5 jours d'incubation des 3 répétitions de la solution mère.



**Figure 19.** Résultats après 5 jours d'incubation des 3 répétitions de la dilution  $10^{-1}$ .



**Figure 20.** Résultats après 5 jours d'incubation des 3 répétitions de la dilution  $10^{-2}$



**Figure 21.** Résultats après 5 jours d'incubation des 3 répétitions de la dilution  $10^{-3}$ .

Les résultats de la deuxième lecture ont été montrés dans les tableaux en annexes. Comme on peut l'observer, nous avons obtenu un total de 147 colonies de plus après une période d'incubation de 5 jours.

Une augmentation de la taille et un changement de couleur du blanchâtre au jaune a été remarqué pour la majorité des colonies, avec une apparition d'autres colonies de couleur noir qui n'ont pas été détectés dans la première lecture. La majorité des colonies ont une forme ronde, élevée ou convexe, avec un contour lisse ou ondulé et de consistance sèche à crémeuse et de transparente à opaque.

L'Augmentation coordonnée des constituants cellulaires, se traduisant par une augmentation de la taille, en plus le temps d'incubation ou de doublement (5 jours) est le temps requis pour le doublement de tous les constituants bactériens.

Tube 1 + tube 2 + tube 3 : après 5 jours on remarque que le trouble du milieu dans les 3 dilutions de  $10^{-1}$  à  $10^{-3}$  est devenu plus dense, ce qui indique une augmentation du nombre de microorganismes. (Figure 22)



**Figure 22.** Apparition d'un trouble plus dense dans les 3 dilutions après 5 jours

### 3.5 Calculs des résultats en UFC

Le calcul du nombre d'UFC par ml ou par g de produit, consiste à faire la moyenne pondérée du nombre de colonies obtenues sur deux dilutions successives dont l'une, au moins, présente un minimum de 30 colonies.

Choisir deux dilutions successives dont :

- l'une au moins présente un minimum de 30 colonies.
- le "nombre maximal de colonies en totalité est de 300 par boîte" ; en présence d'un agent de différenciation, le "nombre maximal des colonies caractéristiques ou présumées est de 150 par boîte "

Equation aux grandeurs :

$$N = \frac{\sum C}{V} (n_1 + 0,1n_2) \times d$$

Avec :

- N = concentration en nombre d'UFC par millilitres
- $\Sigma C$  = somme des colonies comptées sur les deux boites retenues.
- V = volume de l'inoculum appliqué à chaque boite en millilitres.
- d = dilution correspondant à la première boite retenue ; avec l'inoculum le moins dilué.
- n1 = nombre de boites à prendre en compte à la première dilution ;
- N2 = nombre de boites à prendre en compte à deuxième dilution retenue

Le résultat est arrondi à 2 chiffres, exprimé avec un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par la puissance de 10 appropriée. (Tableaux 2 ; 3)

**Tableau 2.** Calculs des résultats en UFC après 48h

<b>SM</b>	N = $9,54 \times 10^2$ UFC
<b>Dilution <math>10^{-1}</math></b>	N = $4,3 \times 10^2$ UFC
<b>Dilution <math>10^{-2}</math> + Dilution <math>10^{-3}</math></b>	Les boites présentent moins de 30 colonies visibles à la surface du milieu de culture donc, elles ne sont pas exploitables.

**Tableau 3.** Calculs des résultats en UFC après 5 jours

<b>SM</b>	N = $1,6 \times 10^3$ UFC
<b>Dilution <math>10^{-1}</math></b>	N = $5,4 \times 10^2$ UFC
<b>Dilution <math>10^{-2}</math></b>	Les boites présentent moins de 30 colonies visibles à la surface du milieu de culture donc, elles ne sont pas exploitables.
<b>Dilution <math>10^{-3}</math></b>	N = $2,04 \times 10^2$ UFC

L'interprétation des résultats obtenus après le dénombrement des colonies sur milieu GN montre une grande concentration en bactéries contenues dans l'échantillon de raisin

(inoculum) dont la concentration en micro-organismes est comprise entre  $9,54 \times 10^2$  et  $4,3 \times 10^2$  UFC et entre  $1,6 \times 10^3$  et  $2,04 \times 10^2$  UFC par ml.

Chaque bactérie isolée donne naissance à une colonie ou UFC pour « unité formant colonie ». En effet, plusieurs bactéries peuvent être à l'origine de la formation d'une seule colonie qui ne peut plus être qualifiée de colonie (pas de clone) mais alors d'UFC.

### 3.6 Caractères phénotypiques (coloration de Gram et bleu de méthylène)

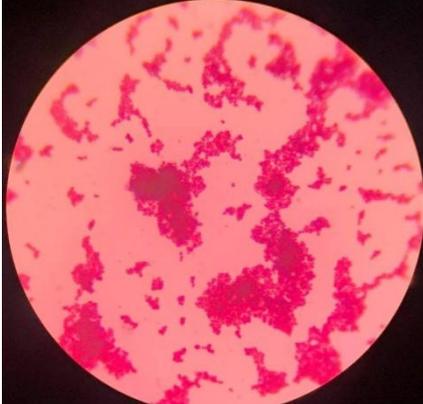
Pour des raisons de logistique, il n'a pas été possible d'analyser la totalité des souches isolées au cours de ce travail. Pour cela, nous nous sommes contentés de travailler sur 6 isolats, tout en s'assurant que cet échantillon inclut les différents morphotypes existants. Ce choix a été effectué aussi sur la base d'un ensemble de critères telle que le Gram et quelques caractères phénotypiques des différentes colonies sur boîtes de Pétri.

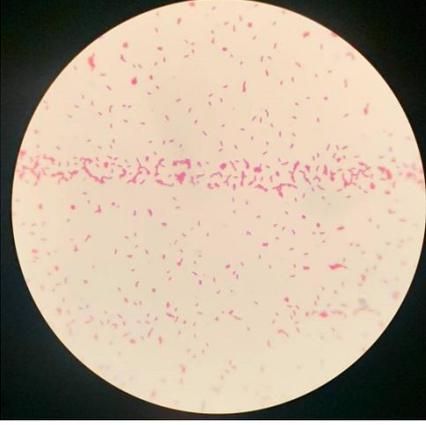
#### 3.6.1 Coloration de Gram

Le Gram nous permet de colorer les bactéries et de les distinguer à l'examen direct par leur aptitude à fixer le violet de gentiane (Gram +) ou la fuschine (Gram  $^-$ ).

La coloration de Gram est fondée sur l'action successive de cristal violet, d'iode puis d'un mélange d'alcool et d'acétone. Dans un premier temps, le colorant pénètre dans la paroi et le cytoplasme. Dans un second temps, l'iode réagit avec le colorant et le rend insoluble. La perméabilité plus grande des bactéries à Gram négatif à l'alcool permet la décoloration. Les bactéries à Gram positif restent colorées en violet ou mauve. Une contre-coloration (par exemple en rose) permet de visualiser à nouveau, les corps cellulaires des bactéries à Gram négatif.

**Tableau 4.** Récapitulatif des résultats de l'observation au microscope optique x100 après une coloration de Gram des différentes cellules.

<p><b>Lame 1 : colonie jaune de la SM</b></p>		<p><b>Observation microscopique :</b> Gram+ Coques, arrondis, en amas</p>
---	---	---

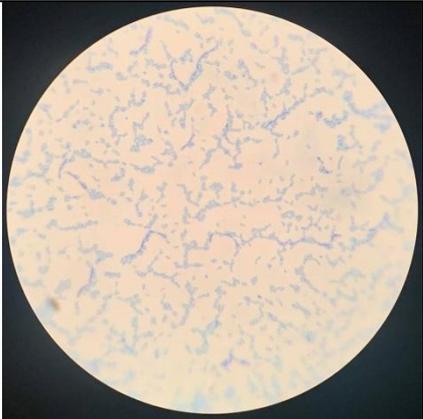
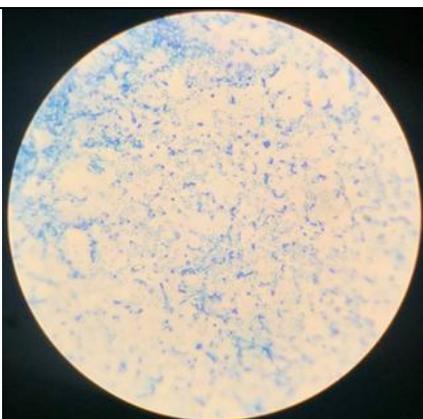
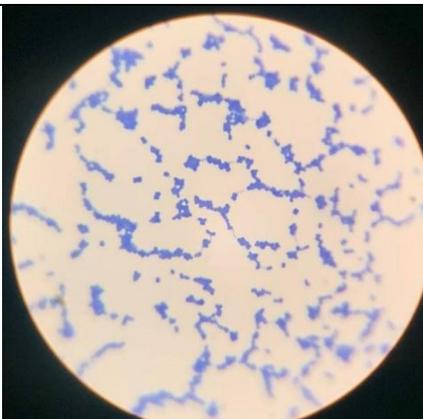
<b>Lame 2 : colonies blanches de la dilution <math>10^{-3}</math></b>		<b>Observation microscopique :</b> Gram-, Bacille
<b>Lame 3 : colonie saumon de la dilution <math>10^{-1}</math></b>		<b>Observation microscopique :</b> Gram-bacille

Le Gram des bactéries a été confirmé avec la méthode de KOH qui consiste à mettre en contact (sur une lame pour microscope) une colonie isolée avec une goutte d'une solution de potasse (KOH) 3 %. À l'aide d'une pipette Pasteur, on mélange. Quelques secondes plus tard, on tire le mélange vers le haut et on observe la formation ou non de filament. Si un filament se forme entre la pipette et la lame, la colonie isolée est alors constituée de bactéries Gram négatives ; si rien n'est entraîné par la pipette, on a affaire à des bactéries Gram positives.

### 3.6.2 Coloration au bleu de méthylène

La coloration au bleu de méthylène (BM) est une coloration simple qui permet d'observer les bactéries, les champignons, mais aussi les cellules qui sont en général mieux conservées qu'avec la coloration de Gram. Elle permet de renseigner sur : la forme des bactéries, la taille et le mode de regroupement.

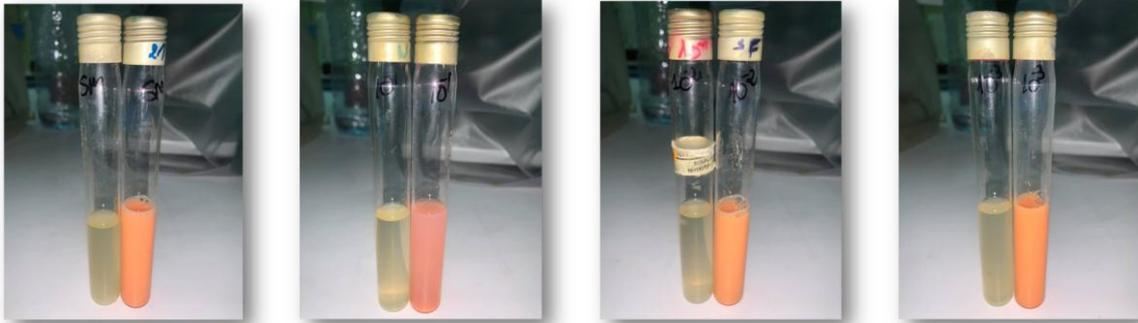
**Tableau 5.** Récapitulatif des résultats de l'observation au microscope optique x40 après colorations au bleu de méthylène des différentes cellules.

<p><b>Lame 1 : une colonie du tapis dilution <math>10^{-2}</math></b></p>		<p><b>Observation microscopique :</b> des bacilles</p>	<p><b>Mode de regroupement :</b> en chaînettes, en amas.</p>
<p><b>Lame 2 : colonie blanche de la dilution <math>10^{-1}</math></b></p>		<p><b>Observation microscopique :</b> des coccobacilles</p>	<p><b>Mode de regroupement :</b> en chaînettes, diplocoques.</p>
<p><b>Lame 3 : colonies jaunes de la dilution <math>10^{-3}</math></b></p>		<p><b>Observation microscopique :</b> des cocci</p>	<p><b>Mode de regroupement :</b> en chaînettes, diplocoques.</p>

### 3.7 Test antifongique (Fungezone)

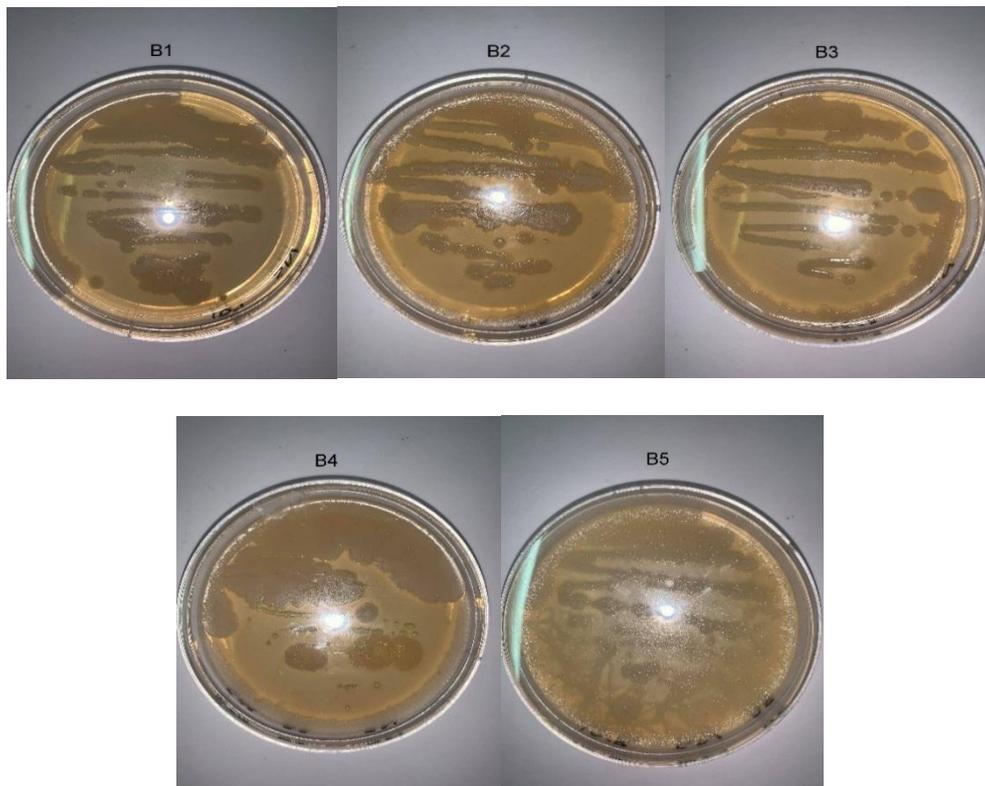
L'utilisation d'une solution antifongique (Fungezone) permet de sélectionner les bactéries en favorisant artificiellement leurs croissances et en inhibant celles des levures et des moisissures.

Après 3 jours d'incubation on observe l'apparition d'un trouble du milieu avec un petit changement de couleur de l'AF ce qui signifie une croissance bactérienne. On remarque également l'apparition d'un trouble dans les tubes sans AF. (Figure 23)



**Figure 23.** Apparition d'un trouble dans les tubes contenant l'AF et sans AF de toutes les dilutions après 3 jours d'incubation.

Après 3 jours d'incubation de l'ensemencement sur milieu GN les tubes de BN contenant une solution antifongique et sans antifongique des différentes dilutions ont donné les résultats suivants (Figure 24).



**Figure 24.** Résultats après 3 jours d'incubation de l'ensemencement sur milieu GN des tubes de BN contenant une solution antifongique et sans antifongique des différentes dilutions.

Le tableau montre les résultats du deuxième isolement (Tableau annexes). De même, les conditions d'incubation et les calculs sont effectués comme précédemment.

Après avoir ajouté un antifongique dans quelques tubes afin de favoriser la croissance des bactéries au détriment des champignons, nous avons découvert et identifié une colonisation majoritaire des milieux par les mêmes communautés microbiennes pour toutes les boîtes avec des critères macroscopiques équivalentes (forme : bombé, Irrégulière ; les couleurs : blanc et jaune), il semble donc qu'il y a un équilibre entre les boîtes contenant l'AF et celles sans AF.

## Discussion

Les résultats de ces travaux montrent que la baie de raisin héberge un écosystème microbien riche et complexe. Cette étude a contribué à une meilleure connaissance de ces communautés en répertoriant de nombreuses espèces et en analysant les facteurs d'impact.

Nous avons analysé l'évolution de différentes populations bactériennes sur des raisins de la variété Red globe en stade de véraison ; notre analyse s'est basée sur des populations cultivables, les résultats de dénombrements sur milieu GN basée sur des méthodes de culture dépendantes et classique montrent un nombre important de microorganisme et une augmentation progressive des niveaux de population.

Plus de 617 isolats sont obtenus à partir des boites de cultures à des moments différents d'incubation. Il n'a pas été possible d'isoler et d'identifier la totalité des bactéries présentes pour chaque boite ; une sélection a donc été effectuée afin de préciser la nature des bactéries présentes à la surface des baies.

Dans un premier temps, une identification des bactéries a été réalisée sur les bases de critères morphologiques (aspect, forme, relief, couleur). Le nombre des bactéries épiphytes isolées, à partir des baies prélevées stérilement est comprise entre  $9,54 \times 10^2$  et  $4,3 \times 10^2$  UFC après 48h d'incubation et entre  $1,6 \times 10^3$  et  $2,04 \times 10^2$  UFC après 5 jours (Ces résultats sont en accord avec les quelques résultats décrits dans la littérature).

Sur la base de critères microscopiques la réalisation des colorations simples ou spécifiques (coloration de Gram) permettant de signaler la présence de diverses espèces. Selon nos travaux, l'identification des bactéries est réalisée sur les colonies les plus fréquentes (colonie jaune et/ou orange) qui sont apparues avec un nombre significatif au cours de notre travail. Les résultats des colorations de Gram et bleu de méthylène effectuée montrent la présence des bactéries en formes bacilles et cocci et à Gram+ et d'autre Gram-.

Selon les résultats analytiques d'autres études sur la fréquence des bactéries Gram-négatives et Gram-positives dans des stades phénologiques différents montrent une diminution du pourcentage des bactéries Gram-négatives tout au long de la maturation de la baie, et une augmentation de celui des bactéries Gram-positives en parallèle (Guilherme, 2012). La prévalence identifiée retrouvée était similaire à nos résultats.

Les espèces bactériennes identifiées à la surface de la baie de raisin sont présentes dans d'autres compartiments de la plante, notamment la rhizosphère ou l'endosphère (Compant et al., 2005, 2010 ; Guilherme, 2012).

**CONCLUSION  
GENERALE**

## **Conclusion Générale**

Les microorganismes de l'écosystème viticole sol, plante, baie contribuent activement à la croissance et à la santé du végétal ; cette microflore, son origine ainsi que les facteurs qui la modifient, est donc importante pour la qualité des raisins (Zhang et al., 2018).

Bien que l'analyse et l'identification de la diversité des bactéries associées à la surface du raisin en soit encore à ses balbutiements, il ressort clairement des travaux réalisés jusqu'à présent que la baie de raisin héberge un écosystème microbien riche et complexe.

Nos résultats ont démontré qu'il y avait une diversité bactérienne assez importante. Nous avons pu identifier des isolats bactériens à différents morphotypes où les souches présentaient les deux types de Gram (positif et négatif) dont les cellules étaient pour la majorité en forme de bacille et cocci. Ces résultats sont également cohérents avec les autres travaux précédemment publiés sur les études viticoles où l'écologie microbienne de la phyllosphère de raisin a été évaluée. Comme le démontre cette étude de (Kántor et al., 2015) les raisins mûrs abritent des populations microbiennes à des niveaux de  $10^4$ – $10^6$  CFU.g<sup>-1</sup> composé principalement de levures et diverses espèces de bactéries lactiques et de bactéries acétique. 30 espèces de bactéries appartenant à 14 genres ont été identifiées (5 Gram négatif et 9 Gram positif) et 12 levures appartenant à 5 genres.

Cette étude a contribué à une évaluation de la communauté microbienne de la baie de raisin ; cependant, les méthodologies et approches utilisées présentent parfois des limites dans la mesure où l'information générée est insuffisante pour appréhender l'écosystème microbien dans sa globalité.

Malgré leur importance, les bactéries liées à la surface des baies de raisin restent peu étudiées et la plupart des travaux antérieurs ont été basés sur des méthodes dépendantes de la culture, qui offrent une vision limitée de la diversité réelle (Portillo et al., 2015).

Références bibliographiques

-B-

Belhout M- T. (1990). Le secteur viticole et vinicole " en algerie : marche interne et commerce international. *Medit*, vol 1, n.1  
Lhttps://newmedit.iamb.it/share/img\_new\_medit\_articoli/510\_33taieb.pdf).

Belaid D. (2017) *Algerie : Renouveau de la viticulture*.  
file:///C:/Users/ACER/Downloads/BrochureViticulture.pdf).

Bessaoud O. (2014) La viticulture oranaise, au cœur de l'économie coloniale. Dans *Histoire de l'Algérie à la période coloniale* pages. pp. 425- 428.

Barata A. ; M. Malfeito-Ferreira V. ; Loureiro(2012) The microbial ecology of wine grape berries. *International Journal of Food Microbiology*,153.(3),P 243-259.

Barata A., Seborro F., Belloch C., MalfeitoFerreira M., & Loureiro V., 2008. Ascomycetous yeast species recovered from grapes damaged by honeydew and sour rot. *Journal of Applied Microbiology*, 104 (4), 1182–1191.

Bae S, Fleet GH et Heard GM (2006). Lactic acid bacteria associated with wine grapes from several Australian vineyards. *Journal of Applied Microbiology* 100(4) : 712-727.

Bulgarelli D, Spaepen SS, Themaat EVL, Shulze-Lefert P. (2013). Structure et fonctions du microbiote bactérien des plantes. *Annu Rev Plant Biol.* 64 : 807 - 838. doi : 10.1146/annurev-arplant-050312-120106.

-C-

Čadež N. ; Jure, Z. & Peter R. (2010) The effect of fungicides on yeast communities associated with grape berries. *FEMS Yeast Research*, 10 (5), 619-630.

Combina M. ; Mercado L. ; Borgo P. ; Elia A (2005). Yeasts associated to Malbec grape berries from Mendoza, Argentina. *Journal of Applied Microbiology*, 98 (5),1055–1061.

Cordero-Bueso G, Arroyo T, Serrano A, Tello J, Aporta I, et al. (2011) Influence du système de culture et du cépage sur les communautés levuriennes associées aux baies de raisin. *Int J Food Microbiol* 145 : 132-139.

Compant S. ; Mitter, B. ; Gualberto J. C. ; Helmut G. & Sessitsh A. (2011). Endophytes of grapevine flowers, berries, and seeds : identification of cultivable bacteria, comparison with other plant parts, and visualization of niches of colonization. *Microb Ecol*, 62. (1) ,188-97.

-D-

Duchêne E. ; Huard, F. ; Dumas, V. ; Schneider, C. & Merdinoglu, D. (2010). The challenge of adapting grapevine varieties to climate change. *Climate Research*, 41, pp 193-204.

**-F-**

Filofteia C. (2010). Ecologie des moisissures présentes sur baies de raisin. *Thèse : Sciences de l'Alimentation*. France : Université de Bourgogne. Institut Universitaire de la Vigne et du Vin (Institut Jules Guyot). p154.

**-G-**

Gilbert J-A. ; van der Lelie D. & Zarraonaindia I. (2014) Microbial terroir for wine grapes. *Proc Natl Acad Sci US A*, 111(1) : 5-6.

Guilherme M. (2012) Communautés microbiennes de la baie de raisin : incidence des facteurs biotiques et abiotiques. *Thèse pour le doctorat Sciences, Technologie, Santé*. France : Université Bordeaux 2.  
[https://www.researchgate.net/publication/306199887\\_Communautes\\_microbiennes\\_de\\_la\\_baie\\_de\\_raisin\\_incidence\\_des\\_facteurs\\_biotiques\\_et\\_abiotiques](https://www.researchgate.net/publication/306199887_Communautes_microbiennes_de_la_baie_de_raisin_incidence_des_facteurs_biotiques_et_abiotiques)

Guilherme M. ; Lauga, B. ; Miot-Sertier C. ; Mercier A. ; Lonvaud A. ; Soulas Ma-L. ; Soulas G. & Masneuf-Pomarède. I. (2013). Characterization of Epiphytic Bacterial Communities from Grapes, Leaves, Bark and Soil of Grapevine Plants Grown, and Their *Relations*. *PLoS. One* [en ligne], 8(8), 2013 Aug 30. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3758280/>

Goutouly J-P. (2017). *Conférence Technique du BIVB* : « Comment se construit le rendement de la vigne ? ». [https://extranet.bivb.com/technique-et-qualite/publications-techniques/comptes-rendus-techniques/gallery\\_files/site/2992/3312/42985.pdf](https://extranet.bivb.com/technique-et-qualite/publications-techniques/comptes-rendus-techniques/gallery_files/site/2992/3312/42985.pdf)

Ganter P. F. (2006) Yeast and Invertebrate Associations. In D. G. Péter & P. C. Rosa (Éd.), *Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts*. Springer Berlin Heidelberg, 303-370

**-H-**

Hallmann J. ; Quadt-Hallmann A. ; Mahaffee W. F. & Kloepper J. W. (1997). Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology*. 43. N°10. October 1997.

**-I-**

Inconnu (2020). *Dates clés de l'histoire de la vigne et du vin*  
<https://www.oenotourisme.com/dates-cles-de-lhistoire-de-la-vigne-et-du-vin/#:~:text=En%20somme%2C%20l'histoire%20de,en%20%20C3%89gypte%20et%20en%20Ph%20C3%A9nicie.5%20f%C3%A9vrier%202020>

**-J-**

Jones G. & Davis R. (2000). Climate influences on grapevine phenology, grape composition and wine production and quality for Bordeaux, France. *American Journal of Enology and Viticulture*, 51, pp 249-261.

**-K-**

Kačániová M. ; Kunova S. ; Felšöciová S. ; & Ivanišová E. (2019). Microbiote de différentes baies de raisin de vin. *Journal of Food Sciences*. [en ligne], DOI : 10.5219/1047. <https://potravinarstvo.com/journal1/index.php/potravinarstvo/article/view/1047/871#inf>

Kántor A. et al. Animal Science and Biotechnologies, *Scientific Papers* : 2015, 48 [https://www.researchgate.net/publication/283257533\\_Diversity\\_of\\_Bacteria\\_and\\_Yeasts\\_on\\_the\\_Surface\\_of\\_Table\\_Grapes](https://www.researchgate.net/publication/283257533_Diversity_of_Bacteria_and_Yeasts_on_the_Surface_of_Table_Grapes)

Kántor A. ; Mareček J. ; Ivanišová E. & Terentjeva M. (2017) Microorganisms of Grape Berries. *Proceedings of the latvian academy of sciences*. Section B, Vol. 71, No. 6 (711), pp. 502–508

**-L-**

Lamonce J. *Du raisin au vin, la biodiversité microbienne en œnologie*. Publiée le 09/01/2014 22:58. <https://www.winemak-in.com/fr/publications/du-raisin-au-vin-la-biodiversite-microbienne-en-oenologie>.

Leveau JHJ et Tech JJ (2011). Microbiomie de la vigne : la diversité bactérienne sur les feuilles de raisin et les fruits de raisin révélés par l'analyse de séquence à haut débit d'amplificons d'arnr 16s. *acta hortic*. 905, 31-42 doi : 10.17660/actahortic.2011.905.2

**-P-**

Parker A. ; Garcia de Cortázar-Atauri I. ; Van Leeuwen C. & Chuine I. (2011). General phenological model to characterise the timing of flowering and veraison of *Vitis vinifera* L. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 17(2), pp 206–216.

Portillo Maria del Carmen ; Franquès J. ; Araque I. ; Réguant C. & Albert Bordonos (2015) Bacterial diversity of Grenache and Carignan grape surface from different vineyards at Priorat wine region (Catalonia, Spain). *Int J Food Microbiol*, 16;219:56-63. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.002. Epub 2015 Dec 18. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26736065/>

Prashant S. ; Alex G. ; Sylvain S. ; Lars H H. ; Jean-Pierre P. (2018). Assessing the impact of plant genetic diversity in shaping the microbial community structure of *Vitis vinifera* phyllosphere in the Mediterranean. *Frontiers in Life Science* [en ligne], 11:1, 35-46, DOI: 10.1080/21553769.2018.1552628

Perazzolli M ; Nesler A ; Giovannini O ; Antonielli L ; Puopolo G ; Pertot I (2020) Ecological impact of a rare sugar on grapevine phyllosphere microbial communities. *Microbiological Research*, Volume 232, article126387

Perazzolli M ; Nesler A ; Giovannini O ; Antonielli L ; Puopolo G ; Pertot I (2014) Resilience of the Natural Phyllosphere Microbiota of the Grapevine to Chemical and Biological Pesticides. *Microbiologie appliquée et environnementale*, Vol. (80, n°12), Pages 3585-3596 <https://doi.org/10.1128/AEM.00415-14>

**-R-**

Renouf V. ; Claisse O. ; Lonvaud-Funel A. (2008) Understanding the microbial ecosystem on the grape berry surface through numeration and identification of yeast and bacteria. *australian. Journal of grape and wine research*, Volume 11, n° 3, Pages 316-327.

Rousseaux S. ; Guilloux-Bénatier M. ; Alexandre H. & Diguta C. (2013). Diversité des moisissures présentes sur baies de raisin en Bourgogne. *Revue des Œnologues, N°146*. Institut Universitaire de la Vigne et du Vin « Jules Guyot ». Université de Bourgogne - Dijon - France. pp.21-38.

Renouf V. et al., 2005. Understanding the microbial ecosystem on the grape berry surface through numeration and identification of yeast and bacteria. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11 (3), 316–327.

**-S-**

Sadoudi M. ; Vuchot P. ; Rousseau S. ; Alexandre H. & Tourdot-Marechal, R. (2002). Diversité de la microflore indigène des vignobles bourguignons et rhodaniens. Raisins et vinifications. *Institut Jules Guyot-IUVV*, rue Claude Ladrey.France. p42-48.

Singh P. ; Gobbi A. ; Santoni S. ; Lars H-H. ; This P. & Jean-Pierre Péros (2018) Assessing the impact of plant genetic diversity in shaping the microbial community structure of *Vitis vinifera* phyllosphere in the Mediterranean. *Frontiers in Life Science* [en ligne], 11:1, 35-46,  
DOI:10.1080/21553769.2018.1552628..<https://doi.org/10.1080/21553769.2018.1552628>

Serra R. Bragab, A. & Venâncio A. (2005). Mycotoxin-producing and other fungi isolated from grapes for wine production, with particular emphasis on ochratoxin A. *Research in Microbiology*. 156, 515–521.

Setati ME, Jacobson D, Andong UC, Bauer FF (2013) Correction : The Vineyard Yeast Microbiome, a Mixed Model Microbial Map. *PLOS ONE* 8(9) :  
10.1371/annotation/b9d307d9-f5c1-4e0d-8945-c5a747b6f58e.

**-T-**

Trevor P, Helen R, Lucie J, David AM (2007) Real-time PCR assay for detection and enumeration of *Hanseniaspora* species from wine and juice. *American Journal of Enology and Viticulture*,58(2):229-233.

Teodorescu R. (2019) Molecular characterisation of new yeast strains isolated from grape marc in Pietroasa Winemaking Centre. *Romania. Journal of Biotechnology*, 305:S53  
DOI:10.1016/j.jbiotec.2019.05.187.

**-V-**

Vorholt J-A (2012). Microbial life in the phyllosphere. *Nat. Rev. Microbiol* 10, 828–840.

**-W-**

Whipps J.M. ; Hand P. ; Pink D. et Bending G.D. (2008) Phyllosphere microbiology with special reference to diversity and plant genotype. *Journal of Applied Microbiology* ,105(n°6), p 1744-1755.

Whitelaw- Weckert MA, Whitelaw ES, Rogiers SY, Quirk L, Clark AC & Huang CX (2011) Bacterial inflorescence rot of grapevine caused by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Plant Pathology* 60: 325–337.

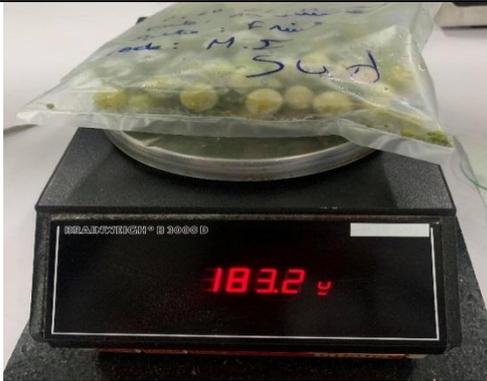
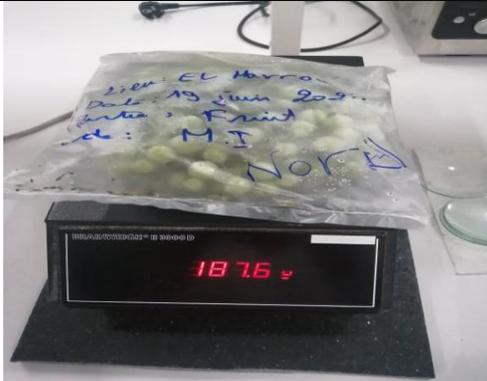
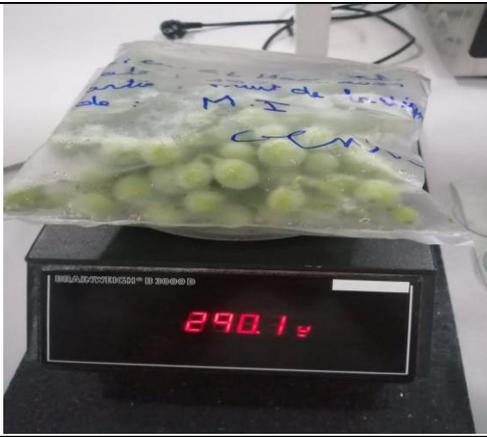
West ER, Cother EJ, Steel CC & Ash GJ (2010) The characterization and diversity of bacterial endophytes of grapevine. *Can. J. Microbiol.* 56: 209–216.

**-Z-**

Zhang J. ; Wang ET. ; Singh RP. ; Guo C. ; Shang Y. ; Chen J. & Liu C. (2018) Grape berry surface bacterial microbiome: impact from the varieties and clones in the same vineyard from central China. *The Society for Applied Microbiology*, ;126(1):204-214.doi: 10.1111/jam.14124. Epub 2018 Oct 29. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30288862/>

## ANNEXES

La pesée des 3 échantillons de fruit provenant des 3 points de prélèvements.

<b>Sud</b>	<b>183,2g</b>	
<b>Nord</b>	<b>187,6g</b>	
<b>Centre</b>	<b>290,1g</b>	

## Récapitulatif des résultats après 48h d'incubation des 3 répétitions de la solution mère

Boîtes/Caractéristiques	Taille	Forme	Aspect	Opacité	Consistance	Couleurs
Boite 1 (64 colonies)	0,2 mm 0,4 mm 0,47 mm 0,3 mm	Ronde	-Bombé -Plate -irrégulière	Transparente	Crémeuse	Blanche Jaune
Boite2 (202 colonies)	1 cm 0,5 cm 0,2 mm 0,4 mm 0,3 mm 0,2 mm	Ronde	-Bombé -Plate -irrégulière	Transparente	Crémeuse	Blanche Jaune
Boite 3 (49 colonies)	0,4 mm 0,5 cm 0,3mm 0,5 cm	Ronde	-Bombé -Plate -irrégulière	Transparente	Crémeuse	Blanches seulement

Récapitulatif des résultats après 48h d'incubation des 3 répétitions de la dilution 10<sup>-1</sup>

Boîtes/Caractéristiques	Taille	Forme	Aspect	Opacité	Consistance	Couleurs
Boite 1 (48 colonies)	0,3mm	Ronde	-Bombé -Plate -semi plate	-Transparente -opaque	Crémeuse	Blanche Jaune
Boite2 (34 colonies)	0,2 mm 1,8 mm	Ronde	-Bombé -Plate -semi plate	-Transparente -opaque	Crémeuse	Blanche Jaune
Boite 3 (61 colonies)	0,2 mm 0,7 cm	Ronde	-Bombé -Plate -semi plate	-Transparente -opaque	Crémeuse	Blanche Jaune Orangé

Récapitulatif des résultats après 48h d'incubation des 3 répétitions de la dilution  $10^{-2}$ 

Boites/Caractéristiques	Taille	Forme	Aspect	Opacité	Consistance	Couleurs
Boite 1 (6 colonies)	0,6 Cm 0,7 cm Le tapis de taille 4,6 cm	Ronde	Bombé	Opaque	Crémeuse	Blanche Jaune
Boite2 (tapis de colonies)			Bombé	Opaque	Crémeux	Blanc
Boite 3 (0 colonies)						

Récapitulatif des résultats après 48h d'incubation des 3 répétitions de la dilution  $10^{-3}$ 

Boites/Caractéristiques	Taille	Forme	Aspect	Opacité	Consistance	Couleurs
Boite 1 (9 colonies)	2 tapis Une moisissure de 2 cm	Ronde	-Bombé	-opaque	Crémeuse	Blanche jaune
Boite2 (11 colonies)		Ronde	-Bombé -Plate -semi plate	-opaque	Crémeuse	Blanche jaune
Boite 3 (7 colonies)		Ronde	-Bombé -Plate -semi plate	-Transparente -opaque	Crémeuse	Blache Jaune

## Récapitulatif des résultats après 5 jours d'incubation des 3 répétitions de la solution mère

Boites/Caractéristiques	Taille	Forme	Aspect	Opacité	Consistance	Couleurs
Boite 1 (+15 colonies) Totale =79 colonies		Ronde	Bombé irrégulière	Opaque	Crémeuse	Blanches Jaunes orangé
Boite2 (202 colonies) Le même nombre		Ronde	Bombé irrégulière	Opaque	Crémeuse	Blanches Jaunes Orangé
Boite 3 (+42 colonies) Totale=244		Ronde	Bombé irrégulière	Opaque	Crémeuse	Blanches Jaunes Orangé

Récapitulatif des résultats après 5 jours d'incubation des 3 répétitions de la dilution  $10^{-1}$ 

Boites/Caractéristiques	Taille	Forme	Aspect	Opacité	Consistance	Couleurs
Boite 1 (+4 colonies) Totale =52 colonies		Ronde	Bombé irrégulière	Opaque	Crémeuse	Blanches Jaunes orangé
Boite2 (+29colonies) Totale =63colonies		Ronde	Bombé irrégulière	Opaque	Crémeuse	Blanches Jaunes Orangé Noir
Boite 3 (+3 colonies) Totale=64		Ronde	Bombé irrégulière	Opaque	Crémeuse	Blanches Jaunes Orangé

Récapitulatif des résultats après 5 jours d'incubation des 3 répétitions de la dilution  $10^{-2}$

Boîtes/Caractéristiques	Taille	Forme	Aspect	Opacité	Consistance	Couleurs
Boîte 1 (Tapis de colonies)		Ronde	Bombé irrégulière	Opaque	Crémeuse	Blanches
Boîte2 (Tapis de colonies)		Ronde	Bombé irrégulière	Opaque	Crémeuse	Blanches Jaunes Orangé
Boîte 3 (+6colonies) Totale=13		Ronde	Bombé irrégulière	Opaque	Crémeuse	Blanches Jaunes Orangé

Récapitulatif des résultats après 5 jours d'incubation des 3 répétitions de la dilution  $10^{-3}$

Boîtes/Caractéristiques	Taille	Forme	Aspect	Opacité	Consistance	Couleurs
Boîte 1 Tapis de colonies		Ronde	Bombé irrégulière	Opaque	Crémeuse	Blanches Jaunes Orangé
Boîte2 (+14colonies) Totale =25colonies		Ronde	Bombé irrégulière	Opaque	Crémeuse	Blanches Jaunes Orangé
Boîte 3 (+13 colonies) Totale=20 colonies		Ronde	Bombé irrégulière	Opaque	Crémeuse	Blanches Jaunes Orangé Noir

Récapitulatif des résultats de l'ensemencement des tubes de BN contenant un antifongique et sans antifongique des différentes dilutions après 3 jours d'incubation.

Boites/Caractéristiques	Forme	Aspect	Opacité	Consistance	Couleurs
Boite 1 Dilution $10^{-1}$ (sans AF)	Ronde Irrégulière	Bombé Plate	-opaque	Crémeuse Lisse Rugueuse	Blanche Jaune
Boite2 Dilution $10^{-2}$ (avec AF) Une biodiversité	Irrégulière	-Plate	-opaque	Crémeuse	Blanche Jaune
Boite 3 Dilution $10^{-3}$ (sans AF)	Ronde	Bombé -Plate	-opaque	Crémeuse	Blache Jaune
Boite 4 SM+AF	Ronde En étoile Irrégulière	Bombé Demi bombé Plate	Opaque	Crémeuse	Jaune Blanche
Boite 5 Dilution $10^{-2}$ (sans AF)	Irrégulière	Demi bombé	Opaque	Crémeuse	Blanche

## **Resumé**

La vigne comme toutes les plantes abrite une biodiversité microbienne habitant les surfaces de ses organes et l'intérieur de ses tissus. Ces populations se composent de bactéries, de levures et de moisissures. Cette étude se focalise sur la population bactérienne présente à la surface des baies de raisin et de ses différentes caractéristiques physiologiques en utilisant une simple approche phénotypique pour mieux comprendre l'écologie bactérienne de cet habitat. Les échantillons ont été collectés en juin 2021, les baies étudiées appartenaient à la variété Red Glob et ramenées d'un vignoble situé dans la région d'El Harrouch (willaya de Skikda) afin d'identifier les espèces présentes dans les différents prélèvements. Les micro-organismes ont été cultivés sur milieu GN à une température ambiante, cette identification repose dans un premier temps sur des tests d'orientation simple tels que : l'aspect, le type cellulaire et le type de Gram des isolats obtenues sur boîte de Pétri ; ce qui nous a permis d'obtenir plus de 617 isolats avec des caractéristiques morphologiques très variés. Pour des raisons de logistique, il n'a pas été possible d'analyser la totalité des souches isolées au cours de ce travail. Pour cela nous nous sommes contentées de 6 isolats, tout en s'assurant que cet échantillon inclut les différents morphotypes existants. Les résultats microscopiques des colorations montrent que parmi les six genres identifiés, les cellules en forme de bacille sont les plus abondantes.

## **Mots clés:**

Vigne, phyllosphère, epiphyte, baies de raisin, bacteries, identification.

**Abstract**

The vine, like all plants, is home to microbial biodiversity inhabiting the surfaces of its organs and the interior of its tissues. These populations are made up of bacteria, yeasts and molds. This study focuses on the bacterial population present on the surface of grape berries and its different physiological characteristics using a simple phenotypic approach to better understand the bacterial ecology of this habitat. The samples were collected in June 2021, the berries studied belonged to the Red Glob variety and brought back from a vineyard located in the region of El Harrouch (Skikda willaya) in order to identify the species present in the different samples. The microorganisms were cultured on GN medium at room temperature, this identification is initially based on simple orientation tests such as: appearance, cell type and type of Gram of the isolats obtained on a dish. Petri dish; which allowed us to obtain more than 617 isolates with very varied morphological characteristics. For logistical reasons, it was not possible to analyze all of the strains isolated during this work. For this we contented ourselves with 6 isolates, while ensuring that this sample includes the different existing morphotypes. The microscopic results of the stains show that among the six genera identified, bacillus-shaped cells are the most abundant.

**Keyword :**

Vine, phyllosphere, epiphyte, grape, berries, bacteria, identification.

الكرمة، مثل جميع النباتات، هي موطن للتنوع البيولوجي الميكروبي الذي يتمركز على أسطح أعضائها وداخل أنسجتها. تتكون هذه التجمعات الميكروبية من البكتيريا والخمائر والعفن. تركز هذه الدراسة على التجمعات البكتيرية الموجودة على سطح العنب وخصائصها الفسيولوجية المختلفة باستخدام نهج النمط الظاهري البسيط لفهم البيئة البكتيرية لهذا الموطن بشكل أفضل. جمعت العينات في يونيو 2021، وكان العنب المدروس ينتمي إلى صنف وتم إحضارها من مزرعة عنب تقع في منطقة الحروش (ولاية سكيكدة) من أجل التعرف على الأنواع الموجودة في العينات المختلفة تم استزراع الكائنات الحية الدقيقة على وسط معين ويعتمد هذا التحديد في البداية على اختبارات توجيه بسيطة مثل: المظهر ونوع الخلية ونوع Gram للمستعمرات isolats التي تم الحصول عليها على طبق. مما سمح لنا بالحصول على أكثر من 617 عزلة ذات خصائص مورفولوجية متنوعة للغاية. لأسباب لوجستية، لم يكن من الممكن تحليل جميع السلالات المعزولة أثناء هذا العمل. لهذا قمنا بالاكتمال ب 6 عزلات، مع التأكد من أن هذه العينة تشمل الأنواع المختلفة الموجودة تظهر النتائج المجهرية للبقع أنه من بين الأجناس الستة التي تم تحديدها، فإن الخلايا على شكل العصيات هي الأكثر وفرة.

Année universitaire 2020/2021
Nini Malak ; Slimani Ikram
Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master
Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire, université frères Mentouri Constantine 1.
<p>La vigne comme toutes les plantes abrite une biodiversité microbienne habitant les surfaces de ses organes et l'intérieur de ses tissus. Ces populations se composent de bactéries, de levures et de moisissures. Cette étude se focalise sur la population bactérienne présente à la surface des baies de raisin et de ses différentes caractéristiques physiologiques en utilisant une simple approche phénotypique pour mieux comprendre l'écologie bactérienne de cet habitat. Les échantillons ont été collectés en juin 2021, les baies étudiées appartenaient à la variété Red Glob et ramenées d'un vignoble situé dans la région d'El Harrouch (willaya de Skikda) afin d'identifier les espèces présentes dans les différents prélèvements. Les micro-organismes ont été cultivés sur milieu GN à une température ambiante, cette identification repose dans un premier temps sur des tests d'orientation simple tels que : l'aspect, le type cellulaire et le type de Gram des <b>isolats</b> obtenues sur boîte de Pétri ; ce qui nous a permis d'obtenir plus de 617 isolats avec des caractéristiques morphologiques très variés. Pour des raisons de logistique, il n'a pas été possible d'analyser la totalité des souches isolées au cours de ce travail. Pour cela nous nous sommes contentées de 6 isolats, tout en s'assurant que cet échantillon inclut les différents morphotypes existants. Les résultats microscopiques des colorations montrent que parmi les six genres identifiés, les cellules en forme de bacille sont les plus abondantes.</p>
<b>Mots clés:</b>
<b>Vigne, phyllosphère, epiphyte, baies de raisin, bacteries, identification.</b>
Président Mr. Kitouni Mahmoud - Professeur- Université frères Mentouri Constantine 1
Encadreur Mr. Benhizia Yacine - Professeur- Université frères Mentouri Constantine 1
Co-encadreur Mme. Dekkiche Samia - MCB- Université Btana 2
Examinatrice Mme. Guergouri Ibtissem - MAA- Université frères Mentouri Constantine 1