

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I

Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

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

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم الميكروبيولوجيا

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Ecologie et Environnements

Spécialité : Ecologie Microbienne

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Contribution à l'étude comparative de la phyllosphère des
feuilles du raisin de table
de deux sites de la région de Skikda.**

Présenté par : ZETTAL Chahrazed
DERDOURI Aya Lina
HAMIDA Fatima

Le .../06/2022

Jury d'évaluation :

Encadreur : Mr BENHIZIA Yacine

Pr. – U. Frères Mentouri Constantine 1.

Examineur 1 : Mme. DEKKICHE Samia

MCB – U. Hadj Lakhdar. Batna 2.

Examineur 2 : Mme. GUERGOURI Ibtissem

MAA- U. Frères Mentouri Constantine 1.

Année universitaire

2021 – 2022

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

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

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم الميكروبيولوجيا

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Ecologie et Environnements

Spécialité : Ecologie Microbienne

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Contribution à l'étude comparative de la phyllosphère des
feuilles du raisin de table
de deux sites de la région de Skikda.**

Présenté par : ZETTAL Chahrazed
DERDOURI Aya Lina
HAMIDA Fatima

Le .../06/2022

Jury d'évaluation :

Encadreur : Mr BENHIZIA Yacine

Pr. – U. Frères Mentouri Constantine 1.

Examineur 1 : Mme. DEKKICHE Samia

MCB – U. Hadj Lakhdar. Batna 2.

Examineur 2 : Mme. GUERGOURI Ibtissem

MAA- U. Frères Mentouri Constantine 1.

Année universitaire

2021 – 2022

Remerciements

On remercie d'abord Allah tout-puissant qui nous a donné la force, courage et surtout la patience et la santé pour accomplir ce travail de fin d'étude.

Nous tenons à exprimer notre plus profonde gratitude, nos remerciements ainsi que notre plus grand respect au Pr. BENHIZIA Yacine pour sa patience, sa disponibilité exceptionnelle et la liberté d'actions qu'il nous a laissé tout au long de la période de réalisation de ce modeste travail.

Nous tenons aussi à remercier sincèrement Mme. HOUDA l'ingénieure de laboratoire de Biologie moléculaire et cellulaire, pour toute l'aide qu'elle nous a apportée.

Un grand merci aux membres du jury, Mme. DEKKICHE Samia et à Mme. GUERGOURI Ibtissem d'avoir accepté de juger ce travail.

Dédicaces

A la lumière de mes jours, aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers, la flamme mon cœur, ma vie et mon bonheur ;

Maman que j'adore

Nasira

Que ce travail témoigne de mes respects

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral

Et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié
pour me voir réussir, mon père

Salah

A mes sœurs, RokaiaAcil, Bessma, Faiza, Maha et Oumaima

A tous mes amis surtout Lina, Fatima, Noura qui m'ont toujours encouragé.

A tous ceux qui m'ont soutenu et qui me soutient encore.

Chahrazed

Dédicaces

Que ce travail témoigne de mes respects

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral

Et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours
sacrifié pour me voir réussir, mon père Hamid

Et A la lumière de mes jours, aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect,
ma considération et mes profonds sentiments envers, la flamme mon cœur, ma
vie et mon bonheur ;

Maman que j'adore

Fatiha

A mes sœurs, Nadjwa, KHawela, Kawter

A mes frères, Imed et sa famille et Achour.

A tous mes amis et mes collègues.

fatima

Dédicaces

Que ce travail témoigne de mes respects

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral

Et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié
pour me voir réussir, mon père Salah

Et A la lumière de mes jours, aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect,
ma considération et mes profonds sentiments envers, la flamme mon cœur, ma
vie et mon bonheur ;

Maman que j'adore

Fatiha

A mon frère, Aymene et ma chère amie Ibtisseme

A toute ma famille Et mes collègues.

Lina

Le but de cette étude est de mettre en évidence les microorganismes poussant à la surface des feuilles de la vigne (*Vitis vinifera*) et d'essayer d'identifier et de déterminer l'abondance des cultivars. A cet effet, une analyse phénotypique est réalisée en appliquant des tests morphologiques et des comptages microbiens qui ont été effectués sur des feuilles prélevées de la variété « Muscat de Hambourg » cultivée dans la wilaya de Skikda, région d'Emjez Edchich. Les résultats obtenus à partir de ces tests ont indiqué la présence d'une diversité microbienne en général et particulièrement bactérienne sur la feuille de la vigne qui a été confirmée par l'utilisation d'un agent antifongique. Cette technique s'est orientée vers la présence de nombreux genres bactériens tels que *Pseudomonas*, *Entérobacter* sous forme de bacilles Gram négatif qui ont été mis en évidence par la technique de la coloration de Gram.

Pour confirmer les résultats de notre étude, des techniques plus avancées et plus précises telles que des techniques fiables de la biologie moléculaire doivent être utilisées.

Mots clés : feuilles de vigne, analyse phénotypique, phyllosphère, *Vitis vinifera*, diversité bactérienne

The aim of this study is to highlight the microorganisms growing on the surface of the leaves of the vine (*Vitis Vinifera*) and to try to identify and determine the abundance of cultivars.

To this end, a phenotypic analysis is carried out by applying morphological tests and microbial counts that were performed on leaves taken from the variety "Muscat de Hambourg" grown in the wilaya of Skikda, region of Emjez Edchich. The results obtained from these tests indicated the presence of a microbial diversity in general and particularly bacterial on the leaf of the vine which was confirmed by the use of an antifungal agent.

This technique was oriented towards the presence of numerous bacterial genera such as *Pseudomonas*, *Enterobacter* in the form of Gram-negative bacilli which were highlighted by the Gram staining technique. To confirm the results of our study, more advanced and precise techniques such as reliable molecular biology techniques must be used.

Keywords : grape leaves, phenotypic analysis, phyllosphere, *Vitis vinifera*, Bacterial diversity.

الغرض من هذه الدراسة هو تسليط الضوء على الكائنات الحية الدقيقة التي تنمو على سطح أوراق العنب (*Vitis vinifera*) ومحاولة التعرف على وفرة الأصناف. تحقيقا لهذه الغاية، يتم إجراء تحليل النمط الظاهري من خلال تطبيق الاختبارات المورفولوجية والتعداد الميكروبي الذي تم إجراؤه على الأوراق المأخوذة من صنف « Muscat de Hambourg » المزروعة في ولاية سكيكدة منطقة امجاز الدشيش. أشارت النتائج التي تم الحصول عليها من هذه الاختبارات إلى وجود تنوع جرثومي بشكل عام وتنوع بكتيري بشكل خاص على أوراق العنب وهو ما تم تأكيده باستخدام عامل مضاد للفطريات. كانت هذه التقنية موجهة نحو وجود العديد من الأجناس البكتيرية مثل *Entérobacter*، *Pseudomonas* على شكل عصيات سالبة الغرام والتي تم ابرازها بواسطة تقنية صبغ الغرام. لتأكيد نتائج دراستنا، يجب استخدام تقنيات أكثر تقدما ودقة مثل التقنيات الموثوقة للبيولوجيا الجزيئية. **الكلمات المفتاحية:** أوراق العنب، تحليل النمط الظاهري، الغلاف الجوي، *Vitis vinifera*، التنوع البكتيري.

Liste des abréviations

ATF :	Antifongique
UFC :	Unité forment colonie
Ha :	Hectares
FAO :	l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture
QS :	Quorum sensing

Liste des figures

Figure 1.	Schéma de la vigne	5
Figure 2.	Tronc de la vigne	6
Figure 3.	Rameaux de la vigne	7
Figure 4.	Bourgeon de la vigne	7
Figure 5.	Feuille de la vigne	8
Figure 6.	Cycle végétatif de la vigne	10
Figure 7.	Symptômes sur vigne et cycle de vie du Mildiou	15
Figure 8.	Symptômes sur vigne et cycle de vie de l'Oïdium	16
Figure 9.	Symptômes sur vigne et cycle de vie de la pourriture grise	17
Figure 10.	Phylloxéra sur feuille de vigne	18
Figure 11.	Variété de vigne	19
Figure 12.	Localisation géographique de la zone d'étude	20
Figure 13.	Outils utilisés dans le prélèvement	21
Figure 14.	Prélèvement des échantillons	21
Figure 15.	Série des dilutions	24
Figure 16.	Trouble observé dans le tube de BN (en l'absence d'ATF)	24
Figure 17.	Boîtes de GN coulés	25
Figure 18.	Étapes de la technique de coloration au Bleu de Méthylène	27
Figure 19.	Étapes de la technique de coloration de Gram	28
Figure 20.	Trouble observé dans le tube de BN (en présence d'ATF).	28
Figure 21.	Observation macroscopique sur GN	29
Figure 22.	croissance des isolats en l'absence d'ATF	30
Figure 23.	Croissance des isolats en présence d'ATF	32
Figure 24.	Observation microscopique des cellules (le Bleu de Méthylène)	33
Figure 25.	Observation microscopique des cellules (coloration de Gram)	34

Liste des tableaux

Tableau 1.	Nombre de colonies microbiennes dans chaque boite de pétrie en UFC	30
Tableau 2.	Nombre de colonies microbiennes dans chaque boite de pétrie en UFC	30
Tableau 3.	Aspect macroscopique des colonies isolées	31
Tableau 4.	Nombre de colonies microbiennes dans chaque boite de pétrie en UFC	32
Tableau 5.	Aspect macroscopique des colonies isolées	32
Tableau 6.	Comparaison entre les résultats de deux analyses	36

Table des matières

Introduction	1
Partie I : Revue bibliographique	
1 Présentation de la plante.....	3
1.1 Généralité sur la vigne.....	3
1.2 Habitat et distribution géographique.....	3
1.3 Systématique de la vigne.....	3
1.4 Exigences climatiques de la vigne.....	4
1.4.1 Température.....	4
1.4.2 Vents.....	4
1.4.3 Précipitations.....	4
1.4.4 Lumière.....	5
1.5 Morphologie générale de la vigne.....	5
1.5.1 Racines.....	6
1.5.2 Tronc.....	6
1.5.3 Rameau.....	6
1.5.4 Bourgeons.....	7
1.5.5 Feuilles.....	7
1.5.6 Fleurs.....	8
1.6 Cycle végétatif de la vigne.....	8
1.6.1 Repos hivernal.....	8
1.6.2 Pleurs.....	8
1.6.3 Débourrement.....	9
1.6.4 Croissance.....	9
1.6.5 L'aoûtement.....	9
1.6.6 Défeuillaison (chute des feuilles).....	9
2 le phyllosphère de la plante de vigne	10
2.1 Introduction au phyllosphère et la flore phyllosphérique.....	10
2.2 Microorganismes colonisant la phyllosphère.....	11
2.3 facteurs influant sur le microbiote phyllosphérique.....	12

3	Interactions entre microorganismes et effets sur la plante.....	12
3.1	Les échanges entre la plante et le microbiote.....	12
3.2	Interaction microbe-microbe hôte.....	13
3.2.1	Formation des biofilms par le microbiote des feuilles.....	13
3.2.2	Quorum sensing dans le microbiote foliaire.....	14
4	Les maladies cryptogamiques et les ravageurs de la vigne.....	14
4.1	Maladies cryptogamiques.....	14
4.2	Ravageurs de la vigne.....	17

Partie II : Partie expérimentale

I : Matériel et méthodes

1	Prélèvement des feuilles de vigne.....	19
1.1	Présentation de la région d'échantillonnage.....	19
1.2	Localisation.....	20
1.3	Matériels et produits utilisés pour le prélèvement.....	20
1.4	Stratégie de prélèvement des feuilles de vigne.....	21
1.5	Conservation des feuilles.....	22
2	Préparation des milieux et des solutions pour l'isolement.....	22
2.1	Préparation des milieux de culture.....	22
2.2	Préparation des solutions.....	23
2.2.1	La solution mère.....	23
2.2.2	La série des dilutions.....	23
3	Isolement de la flore microbienne.....	24
3.1	Isolement sans l'utilisation de l'antifongique.....	24
3.1.1	Purification.....	25
3.1.2	Caractérisation morphologique des isolats.....	25
3.1.2.1	Observation macroscopique des colonies.....	25
3.1.2.2	Observation microscopique des colonies.....	26
3.2.	L'isolement avec l'utilisation d'un antifongique (ATF).....	28

II : Résultats et discussion

1	Mise en évidence des microorganismes sur les feuilles de vigne.....	29
1.1	Analyse macroscopique sur la gélose nutritive.....	29
1.2	Dénombrement des colonies.....	29
2	Isolement des microorganismes sans l'utilisation de l'antifongique.....	30
2.1.	Dénombrement des colonies.....	30
3	Isolements des microorganismes avec l'utilisation de l'antifongique.....	31
3.1	Dénombrement sur gélose nutritive.....	31
4	Observations microscopiques.....	33
4.1	Observation après coloration par le bleu de méthylène.....	33
4.2	Observation après coloration de Gram.....	33
	Résultats et Discussion.....	35
	Conclusion et perspectives.....	37
	Références bibliographiques.....	39

Introduction

Introduction

La vigne est une plante très anciennement cultivée par l'Homme, si bien que l'histoire de la viticulture se confond avec l'histoire de l'Homme. Elle possède de grandes facultés d'adaptation aux conditions pédoclimatiques où elle est cultivée dans les régions chaudes et également sous des climats relativement froids (Reynier., 1989, Galet., 1998). Une estimation de la diversité de *Vitis vinifera* fait état à plus de dix milles cultivars (Agouazi, 2013) et cette situation serait due à l'ancienneté de la culture de la vigne dont la domestication remonterait au moins à 6000 ans (Levadoux., 1956), à l'utilisation de la multiplication végétative qui facilite la fixation de nouveaux caractères et à la diversité des utilisations qui a pu entraîner le maintien de variétés adaptées à chaque type de production. De nos jours, les vignes couvrent près de 8 millions d'hectares dans le monde et produisent plus de 67 millions de tonnes de raisins (Faostat, 2012).

Selon un rapport de l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO) concernant le marché mondial du fruit, le raisin représente 14,6% de la production mondiale, c'est le deuxième fruit cultivé après l'orange. Selon le rapport du mois de juin 2014 du département de l'agriculture des USA (USDA), la production mondiale de raisin de table est en croissance, ainsi l'année 2013/2014 est supérieure d'environ un demi-million de tonnes par rapport à la campagne précédente, pour atteindre 16,5 millions de tonnes. (Khalem, 2017).

La vigne en Algérie est le reflet fidèle de la longue histoire de ce pays, et enregistre ainsi un brassage de peuples et civilisations (Isnard., 1948). Le secteur viticole constitue un point important de la politique Agricole (Sadi Ali et Sekher., 2009), on rencontre la culture de la vigne à différents niveaux géographiques favorables à son adaptation (Ait El-Hocine et Guetiteche., 1990). Il est à signaler que, le développement de la viticulture en Algérie est inscrit comme l'une des priorités du Ministère de l'Agriculture et du Développement rural (MADR) ce qui a amené à une évolution moyenne de la production et des rendements (Sadi Ali et Sekher., 2009) qui lui constitue la 4^{ème} culture pérenne sur le plan de surface et représente le 2^{ème} poste à l'exportation (Saraoui., 2006).

Les régions de production de raisins sont surtout situées au Nord du pays. On citera parmi ces régions : Arzew, Mostaganem, Mascara, Sidi-Bel-Abbès, et Tlemcen à l'Ouest, Boufarik, Médéa, Blida, Chéraga, Tipaza et Tizi-Ouzou pour le centre. Selon les estimations de la FAO, le vignoble Algérien s'étend sur une superficie de 69220 ha pour une production de 650000 tonnes.

Son importance économique se situe au niveau de la production des fruits, le raisin, commercialisé comme raisin de table et jus de fruits. En plus des fruits, il y a une autre partie utilisée à partir de la plante ce sont les feuilles (*Vitis vinifera*) connues par leurs applications dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques (Mansour et al., 2011).

Toutes les plantes terrestres sont habitées par des communautés de micro-organismes diverses, complexes et interactives. En raison de cette association intime, la plante hôte et le microbiote qui lui est associé sont considérés comme une entité étroitement liée (Teixeira et al., 2019). Le phénotype d'un hôte végétal est le résultat collectif de nombreuses interactions avec son microbiote dans un environnement particulier à un moment donné (Vorholt et al., 2017).

L'objectif de notre présente étude est la mise en évidence de la diversité et l'abondance des communautés microbiennes présentes sur les feuilles de la vigne. « Les feuilles de la vigne sont un site informant pour de nombreux types de microorganismes ! Quels sont ces types ? Quelles sont leurs caractéristiques ? Est-ce qu'ils sont nocifs ou bénéfiques ? ». Pour répondre à ces questions, ce travail est organisé en deux parties :

- La première partie représente une revue bibliographique concernant les généralités sur la vigne, la caractérisation et la composition de sa phyllosphère et des notions sur les maladies et les interactions qui se déroulent sur la vigne.
- La deuxième partie est expérimentale et qui a été menée sur un champ de vigne dans la région de Emdjez Edchich, elle est structurée de la manière suivante : décrire le matériel et les méthodes utilisées, exposer les résultats obtenus avec leur interprétation et discussion et enfin donner une conclusion et des perspectives.

Partie I

Revue Bibliographique

1. Présentation de la plante de vigne

1.1 Généralité

La vigne est une plante sarmenteuse, vivace ou pérenne qui peut s'adapter à tous types de sols du plus fertile aux sols pauvres et aux climats pluvieux au semi-arides. sa résistance à la sécheresse permet d'économiser toute la quantité d'eau nécessaire, estimée à 350 à 400 mm de pluie par an .les vignes peuvent rester en place pendant plusieurs décennies de 40 à 60 ans en moyenne dans des conditions de culture normales. . (Halouane, 2007).

La vigne appartient à la famille des vitacées, plusieurs espèces de cette famille ont une grande importance économique produisant le raisin de table, des jus de fruits, le vin et le raisin sec (Walters et al., 2002).

1.2 Habitat et distribution géographique

La vigne a la capacité de se développer sur des terres riches et met en valeur les sols à fortes pentes, rocheux et pauvres. La culture de la vigne se ré pond dans les pays tempérés du Moyen Orient jusqu'à l'Europe occidentale, dans de nombreuses contrées du bassin méditerranéen comme l'Italie et les Îles Grecs. Elle est cultivée également dans le Maghreb.

En Algérie, la viticulture a connu un développement avant la colonisation française avec une superficie estimée à environ 3000 hectares représentée principalement par les cépages autochtones et ceux introduits du Moyen Orient par les Turcs. Après l'indépendance, la surface totale occupait est 366000 hectares et se localisait dans les meilleures terres à savoir les plaines de l'Oranie, de la Mitidja et de la grande Kabylie.

1.3 Systématique de la vigne

La vigne spontanée ou cultivée est une plante dioïque, angiosperme et dicotylédone appartient à la famille des vitacées qui comprend 19 genres, parmi lesquels, seul le Genre *Vitis* contient les espèces utilisées pour la production viticole (Galet., 2000).

La vigne est ainsi positionnée par Galet (1993) :

Embranchement : Phanérogames

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Rhamnales

Famille : *Vitacées*

Genre : *Vitis*

Espèce : *Vitis vinifera*

1.4 Exigences climatiques de la vigne

1.4.1 Température

Les années de grande chaleur donnent des raisins sucrés, peu acides. Mais remarque qu'un excès de chaleur nuit à la qualité des produits en donnant des raisins insuffisamment acides. (Cordeau., 1998).

1.4.2 Vents

Les vents jouent des rôles différents. Par exemple, au printemps, un vent léger empêche la formation de gelées nocturnes mais, par contre, un vent violent endommagera les jeunes rameaux qui pourront se détacher de la souche, entraînant une perte de récolte.

Au moment de la floraison, une brise légère favorise la dissémination du pollen, par contre, pendant l'été, des vents violents dessèchent l'air et le sol. (Cordeau., 1998).

1.4.3 Précipitations

L'eau est nécessaire au développement de la vigne. Les précipitations d'hiver n'exercent aucune influence directe sur la vigne mais les réserves d'eau accumulées dans le sol serviront au printemps et en été. Les pluies de printemps ont une grande importance car elles conditionnent la vitesse de croissance. Les pluies d'été permettant de combattre la sécheresse mais un été pluvieux permet un développement du mildiou pouvant provoquer des désastres.

Les pluies d'automne survenant avant les vendanges peuvent provoquer un développement de la pourriture grise et un éclatement de la baie. (Cordeau., 1998).

1.4.4 Lumière

La vigne est une plante héliophile qui nécessite un ensoleillement entre 1500 et 1600 heures/an (Simon et al., 1992).

D'après Galet (2000), la vigne exige beaucoup de lumière. La quantité de lumière solaire durant la période végétative est un facteur dominant sur la composition chimique du raisin augmentant la richesse en saccharide et diminuant l'acidité.

1.5 Morphologie générale de la vigne

La vigne comme toutes les plantes, est composée de deux parties, une partie souterraine qui est le système racinaire qui colonise le sol et le sous-sol qui assure l'ancrage de la plante, puiser dans le sol l'eau et les matières minérales, la production des hormones de croissance, et constitue aussi l'organe de réserve de l'amidon synthétisé au niveau des feuilles, et un système aérien formé d'un tronc (tige) grêle et tortueux qui se divise en bras portant les bois de taille. Ces bois appelés sarment portent des yeux ou ensemble de bourgeons qui donneront naissance à des rameaux. Le rameau de vigne porte des feuilles en disposition alterne, en face des feuilles on trouve des vrilles ou des inflorescences (Fig. 1). (Guillaume., 2010 ; Marie-cecile., 2011).

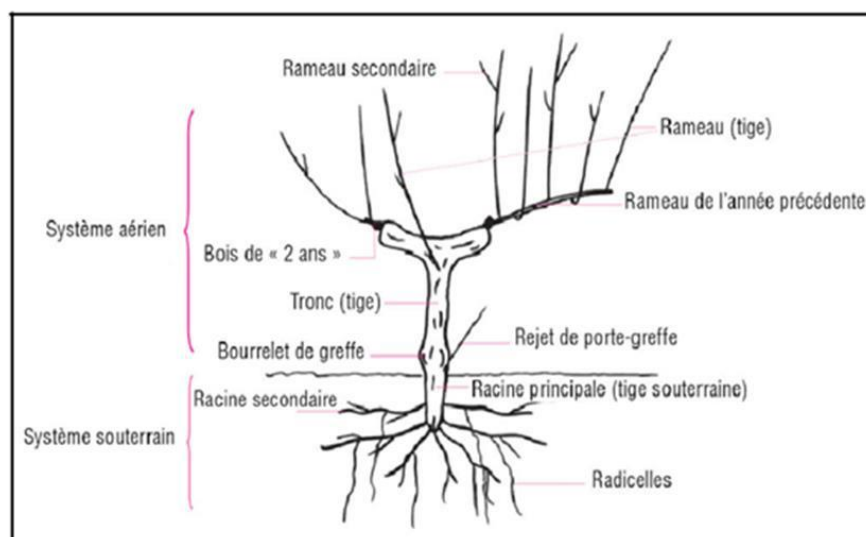


Figure 1. Schéma de la vigne (Guillaume, 2010).

1.

1.5.1 Racines

Les racines d'une souche de vigne sont des racines adventives (Huglin et Schneider, 1998) constituant avec la partie enterrée de la tige, la partie souterraine, nées en majeure partie sur le nœud inférieur de la bouture ou greffe. Dans des conditions chaudes et humides on peut observer le développement des racines adventives aériennes (Huglin., 1986).

1.5.2 Tronc

En botanique, le tronc est la partie principale du corps d'un arbre, généralement dénudée (sans rameaux, feuilles, vrilles ou fruits) située entre les racines et les branches maitresses les plus basses. La vigne n'est pas un arbre mais une liane arbustive, le tronc est compris entre les racines et les sarments les plus bas, il a un diamètre inférieur à 20 cm, d'une longueur variable selon le mode de taille. Naturellement, la vigne rampe sur le sol si elle ne rencontre pas un support pour s'élever (Fig. 2) (Galet., 2000).



Figure 2. Tronc de la vigne (cliché Zettal, 2022)

1.5.3 Rameaux

Les rameaux ou sarments annuels de la vigne sont grêles, cylindriques ou aplatis, peuvent atteindre annuellement une longueur de 8 à 10m, assurent le transport de la sève (Fig. 3). (Ribereau et Peynaud., 1980).



Figure 3. Rameaux de la vigne.

1.5.4 Bourgeons

Les bourgeons sont des rameaux feuillés, embryonnaires, constitués essentiellement par un axe très court et garni de baïes de feuilles et par un méristème et recouvert par des organes protecteurs (écailles et bourre) (Fig. 4) (Galet., 1993).



Figure 4. Bourgeon de la vigne

1.5.5 Feuilles

La feuille comporte cinq nervures principales entre lesquelles on trouve cinq sinus, un sinus pétiolaire et deux latéraux formant un limbe plus ou moins découpé et attaché par son pétiole sur le rameau (Fig. 5) (Guillaume., 2010).

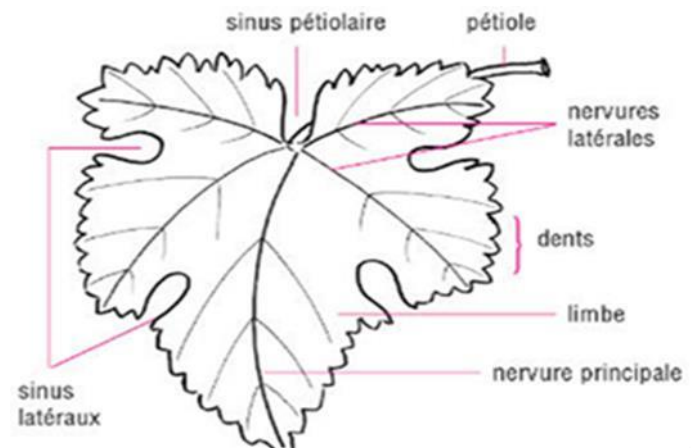


Figure5. Feuille de la vigne (Guillaume., 2010).

La forme de la feuille varie suivant les cépages, elle varie même sur chaque cep : il n'est pas rare de voir, en effet, sur un cep, des feuilles presque entières à côté d'autres profondément découpées. En général, pour un cépage déterminé, les feuilles très découpées indiquent l'infertilité : les vignes stériles ont des feuilles très découpées. Lorsque les découpures profondes ne sont pas un caractère spécifique du cépage, elles sont dues, le plus souvent, à une maladie à virus : la dégénérescence infectieuse qui provoque aussi l'asymétrie des feuilles et aboutit à l'infertilité des ceps. Il est bon de tenir compte de ces indications lors du choix des sarments comme boutures ou comme greffons (Galet., 1993).

1.5.6 Fleurs

Les fleurs de la vigne sont groupées en une inflorescence dont la charpente est très ramifiée et qui porte de 100 à 200 fleurs ou plus. La richesse en fleurs dépend de la vigueur et des facteurs nutritionnels (Bessis et Bugnon., 1968).

1.6 Cycle végétatif de la vigne

1.6.1 Repos hivernal

Encore appelée dormance, cet état se définit par une absence de croissance des bourgeons qui ne manifestent par un allongement visible (Huglin et Schneider., 1998).

1.6.2 Pleurs

Ils constituent la première manifestation externe du passage de la vie ralentie à la vie active. Dès que le sol se réchauffe, il se produit une reprise de l'activité cellulaire des racines. A partir de ce moment-là, on voit les sarments qui commencent à couler. L'arrêt de cet écoulement résulte du développement des bactéries saprophytes dans la sève provoquant ainsi

l'apparition de gommages (cicatrisation) et la formation d'une masse gluante (Huglin et Schneider., 1998).

1.6.3 Débourrement

Celui-ci débute par le gonflement des bourgeons puis par l'écartement des écailles et le rejet extérieur de la bourre qui a protégé le bourgeon pendant l'hiver (Huglin et Schneider., 1998).

1.6.4 Croissance

La croissance n'est pas régulière et passe par différents stades ; après le débourrement, la jeune pousse met plusieurs jours à pointer hors des écailles. Puis les feuilles rudimentaires apparaissent, à un stade plus avancé, elles vont s'étaler. A ce là, les grappes encore à l'état rudimentaire apparaissent. Ceci se passant au bout du rameau, nous verrons petit à petit les grappes s'espacer et s'éloigner de plus en plus du sommet du rameau. Pendant l'été, le cycle se poursuivra par une croissance continue de la vigne (Huglin et Schneider., 1998).

1.6.5 L'aoûtement

On appelle l'aoûtement le changement d'aspect de la vigne du a des dépôts d'amidon au moment de l'arrêt de la croissance ou juste apres.il est perceptible à la base des rameaux par une coloration brune et un flétrissement de l'écorce (formation du liège et lignification des rameaux).Les rameaux deviennent alors des sarments (Huglin et Schneider., 1998).

1.6.6 Défeuillaison (chute des feuilles)

Les réserves amylacées accumulées dans les feuilles migrent vers les sarments et les racines. C'est la chute normale des feuilles en fin de cycle végétatif (Fig. 6). (Huglin et Schneider, 1998).

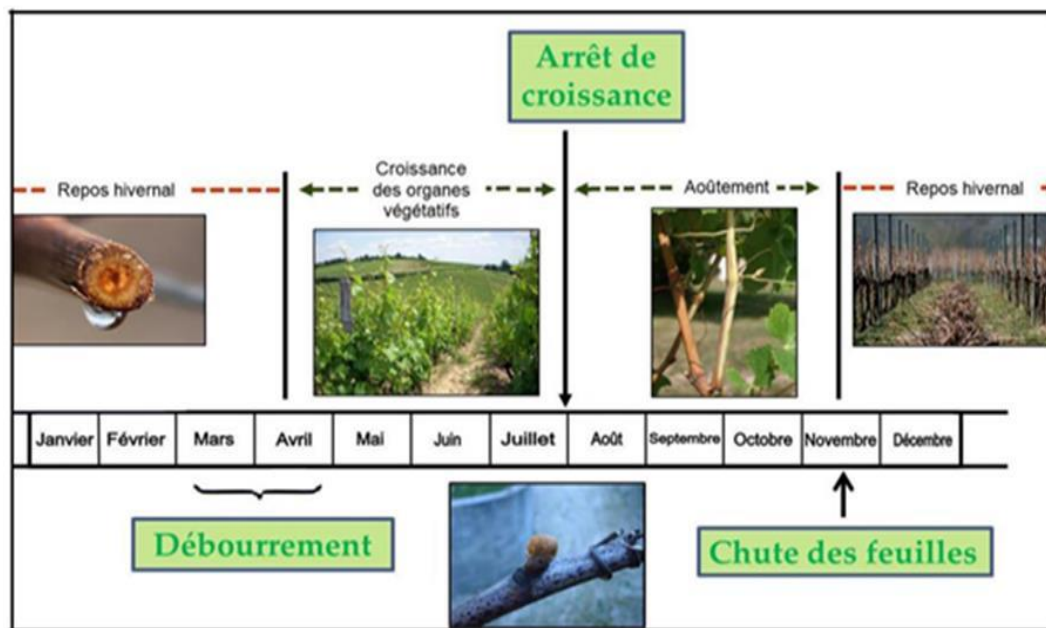


Figure 6. Cycle végétatif de la vigne (Marie-Cecile, 2011 ; Younes, 2017).

2 Phyllosphère de la plante de vigne

2.1 Introduction à phyllosphère et flore phyllosphérique

La phyllosphère est un terme utilisé en microbiologie pour désigner la surface totale au-dessus du sol d'une plante. Cette surface est considérée comme un habitat pour les microorganismes (Enfin., 1955).

La phyllosphère peut encore être subdivisée en caulosphere (tiges) phylloplane (feuilles) anthosphere (fleurs) et carposphere (fruits) (Fernanda et al., 2018).

Cette partie aérienne des plantes, dominée par les feuilles (Lindow et Brandl., 2003) créant un environnement fluctuant et instable, exposé à de multiples stress et relativement dépourvu de sources de nutriments (Bringel et Couée., 2015).

La feuille abrite divers microorganismes qui habitent la surface et l'intérieur, et sont connus comme épiphytes et endophytes, respectivement (Beattie et Lindow., 1999 ; Lindow et Brandl., 2003). Parmi ces micro-organismes, les bactéries sont les habitants les plus courants, suivies des champignons filamenteux et des souches de levure (Stone et al., 2018), des protistes (Sapp et al., 2018) et des bactériophages (Balogh et al., 2018). Le titre bactérien représente $\sim 10^6$ - 10^7 cellules cm^{-2} de surface foliaire (Lindow et Brandl., 2003), tandis qu'un titre typique de levure varie de 10^1 à 10^4 cellules cm^2 de feuille (Shivas et Brown., 1984). L'origine des communautés microbiennes foliaires n'est pas limitée à une seule source

(Vorholt., 2012 ; Bodenhausen et al., 2013 ; Maignien et al., 2014 ; Bai et al., 2015 ; Frank et al., 2017).

2.2 Microorganismes colonisant le phyllosphère

Les sources de micro-organismes sur la phyllosphère peuvent être multiples. Les champignons filamenteux épiphytes, les levures et les bactéries peuvent arriver à la surface des feuilles par l'intermédiaire de sources véhiculées par les insectes, l'atmosphère, les graines ou même les animaux. Les bourgeons des arbres, les graines des plantes annuelles et les débris des cultures précédentes sont probablement les sources les plus importantes pour la colonisation des nouvelles plantes et feuilles car ils constituent une source majeure de bactéries déjà adaptées à la phyllosphère (Manceau et Kasempour., 2002).

Les micro-organismes qui ne se multiplient pas ou peu dans la phyllosphère sont considérés comme des épiphytes transitoires, tandis que ceux qui ont la capacité de se multiplier en l'absence de blessures sont appelés épiphytes résiduels (Suslow., 2002).

La composition et la concentration de la microflore atmosphérique peuvent changer quotidiennement et selon les saisons, ainsi qu'en réponse à des événements environnementaux, tels que des précipitations et des vents violents (Kinkel., 1997 ; Zak., 2002), qui affectent directement l'immigration de micro-organismes dans la phyllosphère. La végétation locale et, dans les zones de production agricole, les pratiques agricoles telles que la récolte et la culture influencent également la microbiologie atmosphérique et la colonisation des plantes voisines (Lindemann et al., 1982 ; Lacey., 1996 ; Lighthart., 1997). La migration microbienne de l'atmosphère vers les feuilles peut se produire en frappant la surface des feuilles, la sédimentation ou les éclaboussures de pluie et la contamination du sol (Venette et Kennedy., 1975 ; Lacey., 1996).

Il est de plus en plus évident que les micro-organismes présents sur les graines ou les racines peuvent devenir des endophytes racinaires, pénétrer dans le système vasculaire et être transférés aux parties aériennes des plantes, où ils s'installent en tant qu'endophytes de la phyllosphère (Lamb et al. 1996 ; Wulff et al., 2003). Les endophytes peuvent également provenir de la pénétration des espaces foliaires internes après la colonisation des épiphytes, ce qui suggère que les épiphytes et les endophytes font en effet partie d'un continuum dans la phyllosphère (Beattie et Lindow., 1999 ; Wilson et al., 1999).

2.3 Facteurs influant sur le microbiote phyllosphérique

Les facteurs qui semblent fortement corrélés à la composition des communautés de microorganismes dans la phyllosphère sont : le nombre de jours de gel dans l'année, la température moyenne en été, la pluviométrie à court et long terme (Cordier et al., 2012), l'âge de l'organe végétal considéré, son état physiologique, son état structurel (endommagé ou non) (Hallmann et al., 1997), la pression osmotique, la dose d'UV ou encore les apports en eau et en nutriment. Tous ces facteurs sont autant de variables qui font de la phyllosphère un habitat hostile (Kadivar et Stapleton., 2003). Au final, ce sont de nombreux facteurs, tous plus ou moins liés à la période de la journée ou de la saison, influents sur la composition et la structure de la communauté phyllosphérique. En effet, sur la durée d'une journée, les feuilles peuvent être exposées à des températures comprises entre 40 à 55 °C à la lumière du soleil, tandis que, durant la nuit, les températures à la surface chutent entre 5 et 10 °C (Thompson et al., 1993). De plus, le profil des métabolites excrétés par la plante et qui sont sources de carbone pour les microorganismes varie également entre le jour et la nuit. D'ailleurs, les métabolites produits par la plante sont affectés par les stress biotiques et abiotiques qu'elle subit, ce qui fait notamment fluctuer les glucides produits (Trouvelot et al., 2014). Sur un temps plus long, les changements climatiques liés aux saisons ont également un impact sur la structuration de la communauté de microorganismes. Il a par exemple été montré que la diversité et la spécificité de la communauté bactérienne du phylloplan sont maximales en milieu de saison de croissance, en juillet et août, tandis qu'elles sont plus faibles en début et fin de saison (Redford et Fierer., 2009).

3. Interactions entre microorganismes et effets sur la plante

On trouve dans le compartiment foliaire des interactions distinctes entre les microbiotes qui influencent la plante hôte, façonnant la communauté microbienne et le succès de la colonisation.

3.1 Échangés entre la plante et le microbiote

Les plantes fournissent aux micro-organismes un habitat approprié - parfois difficile - et des sources d'azote et de carbone pour leur métabolisme. D'autre part, les microorganismes protègent les plantes contre les agents pathogènes par différents mécanismes : compétition de niche, production d'antimicrobiens, libération de métabolites secondaires et induction d'une résistance systémique qui stimule les défenses de la plante pour faire face à une éventuelle attaque d'agents pathogènes (Li et al., 2012 ; Lopez-Velasco et al., 2012 ; Kefi et al., 2015 ;

Saleem et al., 2017). De même, les microorganismes sont impliqués dans la promotion de la croissance des plantes par la production de régulateurs de croissance (Venkatachalam et al., 2016) et la mise à disposition de certains nutriments essentiels comme l'azote, le phosphore et autres (Fu et al., 2016).

De nombreux rapports montrent que les micro-organismes de la phyllosphère produisent des régulateurs de croissance naturels, tels que les auxines, qui sont des régulateurs végétaux les plus courants, qui améliorent la croissance des plantes et donc l'augmentation de l'absorption des nutriments via l'activité de la photosynthèse en augmentant la surface effective des feuilles (Mwajita et al., 2013).

Les micro-organismes de la phyllosphère interviennent également dans le métabolisme de certains nutriments pour la plante. Certains groupes de micro-organismes associés aux feuilles sont capables de fixer l'azote (N) à partir de sources atmosphériques. Dans ce processus, ils produisent de l'azote organique à l'aide d'une enzyme hautement spécialisée appelée nitrogénase. Les plantes absorbent ensuite l'azote organique en complément pour satisfaire leurs besoins internes. Les groupes bactériens dominants de la phyllosphère sont des bactéries diazotrophes (fixatrices d'azote) selon un certain nombre d'études (Kembel et al., 2014 ; Lambais et al., 2017).

3.2 Interaction microbe-microbe hôte

Les membres du microbiote de la phyllosphère ont des interactions étendues les uns avec les autres, y compris la concurrence pour les nutriments ou l'espace, l'inhibition directe (par exemple, par la production d'antibiotiques) et l'inhibition indirecte (par exemple, par la stimulation de la défense des plantes) (Esser et al., 2015 ; Hassani et al., 2018).

Il semble qu'il existe des espèces " clés de voûte " qui jouent un rôle central dans le façonnement de la structure globale de la communauté microbienne de la phyllosphère et qui interagissent directement ou indirectement avec d'autres microbes (Carlstrom et al., 2019).

Étant donné que les conditions de surface des feuilles et des autres organes aériens sont difficiles, les micro-organismes de la phyllosphère ont tendance à former des biofilms pour se protéger des facteurs environnementaux agressifs (Morris et al., 1997).

3.2.1 Formation des biofilms par le microbiote des feuilles

Les microbes colonisent les feuilles sous forme de communautés multicellulaires complexes. La coévolution à long terme de communautés qui se sont coadaptées et

spécialisées aboutit à des associations distinctes qui facilitent davantage les modes de vie microbiens mutualistes, symbiotiques, compétitifs, antagonistes et même pathogènes avec l'hôte (Braga et al., 2016). L'association entre les communautés commence par l'adhésion initiale à la surface de la feuille et se termine par un réseau complexe d'interactions.

D'autre part, il existe un processus important que les microbes utilisant pour communiquer entre eux, est qui s'appelle le Quorum sensing

3.2.2 Quorum sensing dans le microbiote foliaire

La colonisation microbienne des plantes est régulée par le phénomène de QS dépendant de la densité, une stratégie de survie dans l'habitat difficile des feuilles. Les mécanismes de QS impliquent une communication bactérienne intra- espèces et également inter-espèces pour partager des informations et réguler leurs activités physiologiques et coordonner l'expression génétique de facteurs tels que la motilité, le biofilm, la colonisation de l'hôte et la virulence (Ng et Bassler., 2009 ; Elias et Banin., 2012).

4. Maladies cryptogamiques et les ravageurs de la vigne

La vigne est une culture sensible aux maladies. Toutefois, cette sensibilité varie en fonction des cépages. Généralement, lorsqu'aucun moyen de lutte n'est employé, les dégâts peuvent être considérables. Le mildiou, l'oïdium la pourriture grise sont les principales maladies de la vigne.

4.1 Maladies cryptogamiques

4.1.1 Mildiou

Le Mildiou est une maladie qui touche toutes les parties herbacées de la vigne. Elle est causée par l'oomycète *Plasmopara viticola*, de la famille des *Peronosporacées* est observable à l'œil nu. C'est un parasite strict qui ne se développe que sur des tissus vivants. Il provoque des pertes de récolte, des problèmes de maturation et d'affaiblissement de la souche (Fig. 7) (Galet., 1995).

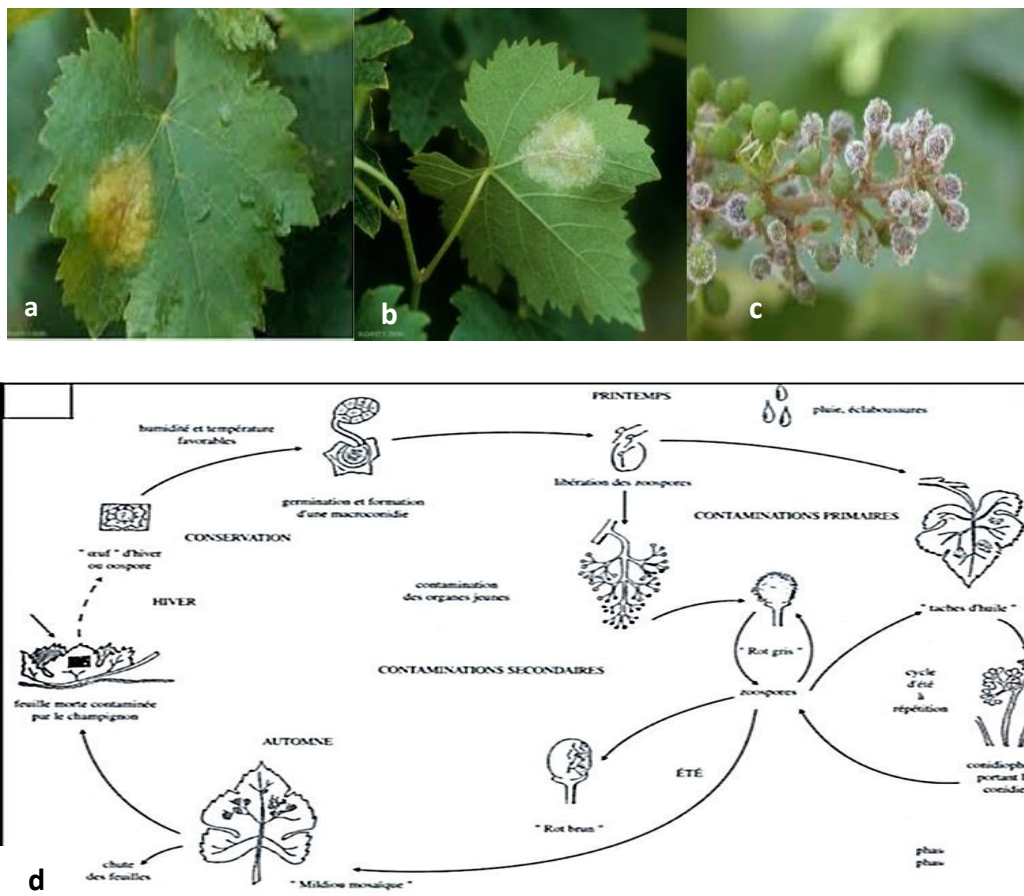


Figure 7. Symptômes sur vigne et cycle de vie du Mildiou. **a.** Décoloration huileuse, **b.** Fructifications blanchâtres sur les feuilles, **c.** inflorescence recouverte de fructification blanchâtre, **d.** cycle de vie du champignon (déroulement de la contamination). (Dubos., 2002 et Ephytia INRA).

4.1.2 L'oïdium

L'Oïdium est une maladie fongique de la vigne présente dans tous les vignobles avec des intensités différentes selon les régions et les cépages. C'est la maladie de la vigne la plus répandue dans le monde. Tous les organes herbacés sont sensibles. (Dubos., 1999). Cette maladie est causée par l'ascomycète de la famille des *Erysiphacées* de forme parfait *Uncinulanecator*. C'est un parasite obligatoire de la vigne et de l'ensemble des espèces du genre *Vitis* (Fig. 8).

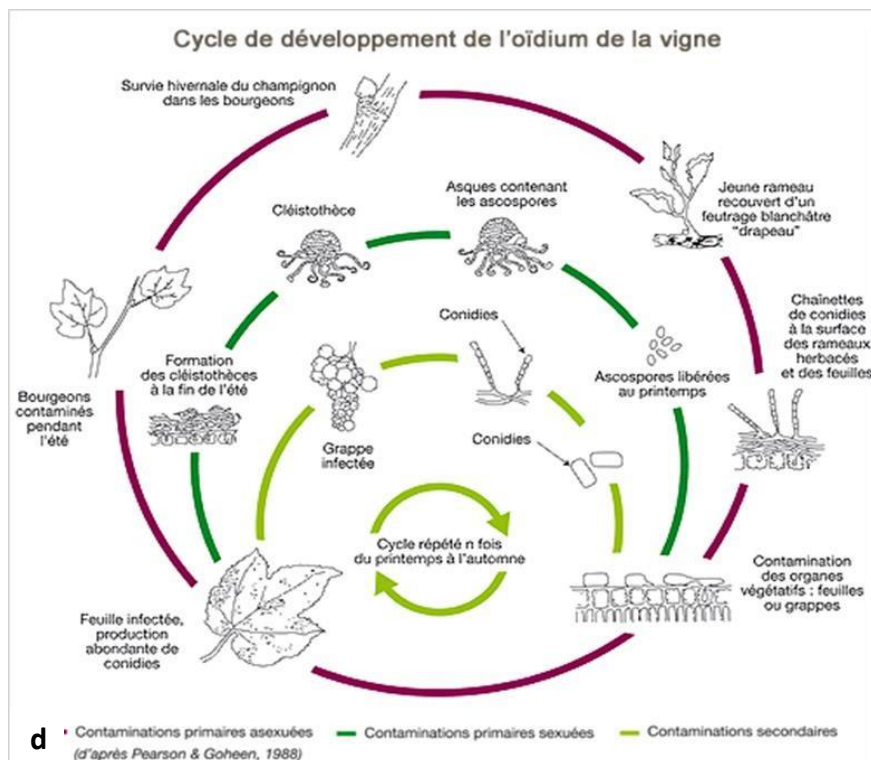
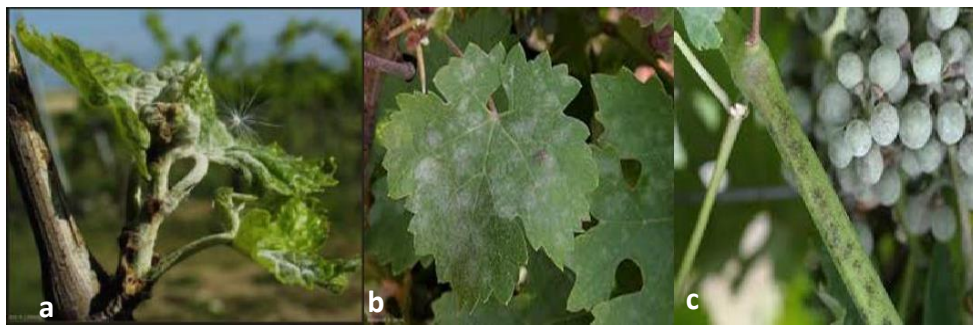


Figure 8 . Symptômes sur vigne et cycle de vie de l'Oïdium. **a.** Ralentissement de la croissance des bourgeons, **b.** feutrage blanchâtre sur les Feuilles, **c.** taches noires sur les rameaux et feutrage sur les baies, **d.** cycle de vie du Champignon (déroulement de la contamination). (Dubos., 2002 et Ephytia INRA).

4.1.3 La Pourriture grise *Botrytis cinerea*

La Pourriture grise est une maladie dont le développement sur le raisin peut être explosif si les conditions météorologiques lui sont favorables ou si les baies sont réceptives. Cause par *Botrytis cinerea*, est un champignon polyphage et saprophyte, peut attaquer tous les organes de la vigne mais surtout les grappes à l'approche, de la maturité. Le symptôme le plus remarquable de la Pourriture grise est le feutrage gris a la surface des organes atteints. Sur

feuilles les premières attaques apparaissent d'Avril à juin sous forme de taches brun rougeâtres en périphérie des feuilles (Fig. 9) (Galet., 1995).

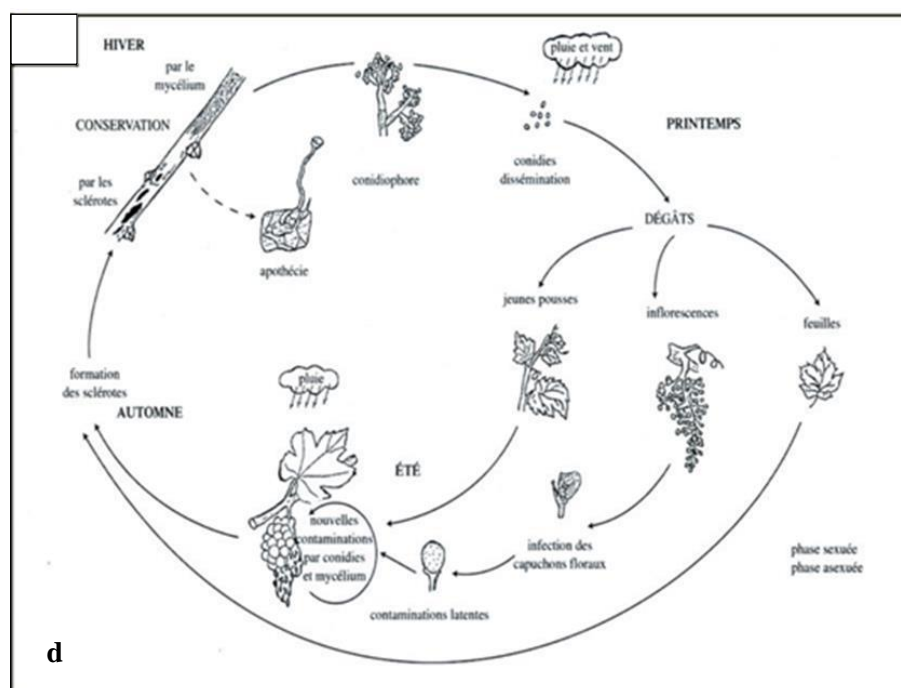
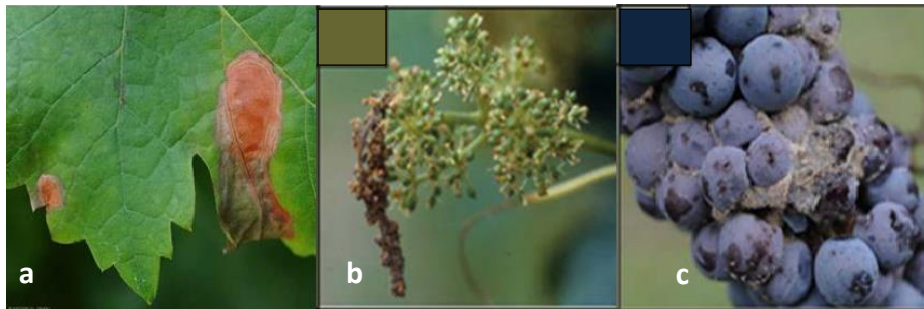


Figure 9. Symptômes sur vigne et cycle de vie de la Pourriture grise. **a.** nécrose caractéristique sur les feuilles, **b.** inflorescence brunie et flétrie, **c.** fruits contaminés par les fructifications, **d.** cycle de vie du champignon déroulement de la contamination. (Dubos., 2002 et Ephytia INRA).

4.2 Ravageurs

- **Le phylloxéra**, qui a été identifié en 1863. C'est un puceron qui s'attaque aux racines, empêchant ainsi l'alimentation du plan de vigne.

Moyen de lutte : utilisation de porte-greffes adaptés au sol (Fig .10). (Alexandra., 2022).

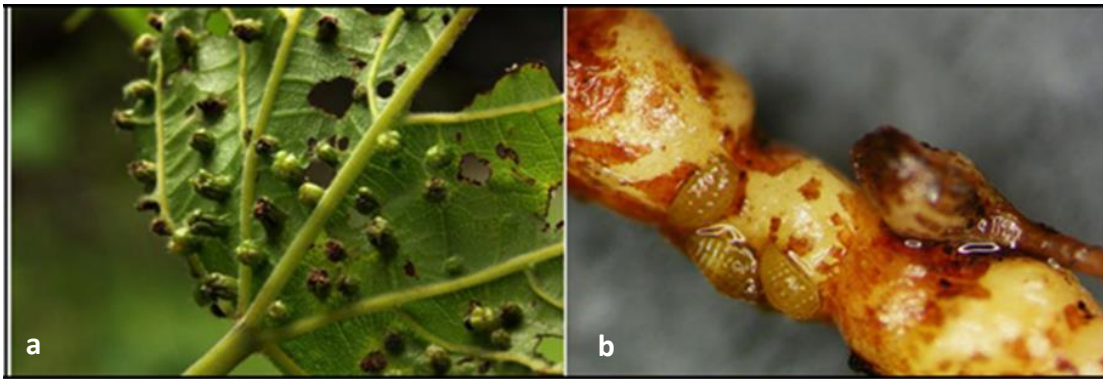


Figure10. Phylloxéra sur feuille de vigne, a. la feuille de vigne, b. Phylloxéra

(Source <https://jardinage.ooreka.fr/astuce/voir/638971/phyloxera-de-lavigne>).

- **La cicadelle** qui est plus connue sous le nom de flavescence dorée. La cicadelle est un ravageur de la vigne de l'ordre des homoptères (comme la cigale) qui infecte la zone vasculaire où circule la sève de vigne. Ainsi, les feuilles rougissent et deviennent involutées. De plus, les grappes se dessèchent et les bois peinent à pousser.

Moyen de lutte : l'arrachage du pied porteur pour éviter sa propagation. (Alexandra., 2022).

- **La cicadelle verte** des grillures est la plus ancienne et la plus fréquente. Cet insecte est peu nuisible pour la plante et entraîne une décoloration du feuillage.

Moyen de lutte : préventive ou prophylaxie – qui désigne l'ensemble des moyens mis en œuvre pour empêcher l'apparition ou l'extension des maladies de la vigne – ou chimique. (Alexandra., 2022).

- **La cicadelle pruineuse** est apparue en 1986 en Europe. Elles piquent, sucent et déposent un miellat noir. Il s'agit d'un liquide épais et visqueux, excrété par les insectes, qui attire les autres maladies. Cela affecte la qualité de la récolte. (Alexandra., 2022).
- **Les vers de la grappe**, connus également sous le nom de cochylis, eudémis et eulia. Ce sont des chenilles tordeuses qui s'attaquent aux inflorescences et aux grappes.

Moyen de lutte : chimique ou biologique, par confusion sexuelle. (Alexandra., 2022).

Partie II

expérimentale

1 Prélèvement des feuilles de vigne

1.1 Présentation de la région d'échantillonnage

Pour notre étude, nous avons choisi une zone d'exploitation du raisin de table dans la wilaya de Skikda (Emdjez Edchich) exactement à l'institut technique l'arboriculture fruitière et de la vigne (Mazraat El Barhana).

Cette ferme a été créée dans les années quatre-vingt avec une superficie d'environ 98 hectares, 3 hectares dédiés à la culture du raisin, ou chaque hectare contient 2640 plants avec une distance de 1,50m entre chaque plant et un autre, et 3 mètres entre les rangs. Il y a 40 variétés de raisins dans cette ferme, d'origines différentes : algérienne, européenne, américaine comme : Aura, Cardinal et Borne...

Dans notre mémoire, nous avons choisi la variété Muscat Hambourg, ses fruits sont noirs et disposés en grosses grappes et parfumée. Cette plante est grande, d'une taille d'environ 5m et elle munit complètement au mois d'aout (Fig .11).



Figure 11. La variété de vigne (Muscat Hambourg) (cliché Zettal, 2022)

1.2 Localisation

La commune de Emjez Edchich est localisée dans la partie centrale de la wilaya de Skikda à 34 km au Sud-est de Skikda traversée par deux chemins de wilaya n° 06 et n° 142 qui mènent vers des destinations importantes et le chemin de fer. Elle est limitée au Nord par les communes de Bouchetata et Ramdane Djamel, au Sud la commune d'El-Harrouch, à l'Est la commune de Salah Bouchaour et à l'ouest par la commune de Sidi Mezghiche (Fig .12).

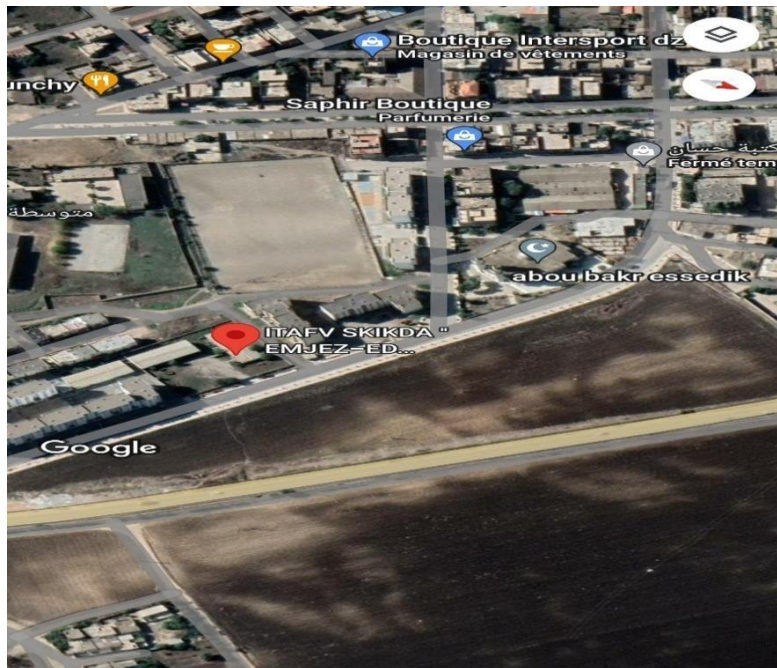


Figure 12. Localisation géographique de la zone d'étude.

1.3 Matériel et produits utilisés pour le prélèvement

Pour un bon prélèvement stérile des feuilles de vigne sur le site de prélèvement nous avons utilisé les outils et produit suivants (Fig. 13) :

- Alcool
- Sacs de plastiques stériles et autoclavable
- Un ciseau
- Marqueurs indélébiles
- Glacière
- Ruban adhésif



Figure 13. Outils utilisés dans le prélèvement (cliché Zettal, 2022)

1.4 Stratégie de prélèvement des feuilles de vigne

Pour commencer notre étude sur les feuilles de vigne, nous avons choisi la variété Muscat de Hambourg. Le 18 avril 2022 et au niveau de l'institut technique de l'arboriculture fruitière et de la vigne (ITAFV) station de Emjez Edchich Skikda, nous avons échantillonné arbitrairement à partir de trois points différents (nord, milieu et sud du site d'échantillonnage). Chaque sac contiendra cinq feuilles.

Le prélèvement commence au point nord (point de départ du champ) sans toucher les feuilles de vigne, ceci pour éviter de contaminer l'échantillon. Nous plaçons les serments dans le sac de prélèvement stérile, ceci est réalisé en coupant le pétiole avec un ciseau stérile par trempage dans l'éthanol et flambage. Nous répétons le même processus pour tous les autres points d'échantillonnage (Fig.14).



Figure 14. Prélèvement des échantillons (cliché Zettal, 2022)

1.5 Conservation des feuilles

Afin de conserver les feuilles de vigne, nous inscrivons les données de chaque prélèvement sur les sacs telles que le nom, le lieu et la date, la position dans le site du prélèvement, nous pressons soigneusement les sacs pour les vider de l'air avant leur fermeture avec un ruban adhésif, puis nous les plaçons dans la glacière afin d'être transportés au laboratoire.

2. Préparation des milieux et des solutions pour l'isolement

Afin de séparer les microorganismes présents à la surface de la feuille, nous devons préparer des solutions et des milieux de culture qui vont nous permettre d'isoler et de déterminer le nombre et le type de bactéries.

2.1 Préparation des milieux de cultures

La gélose nutritive

La gélose nutritive est un milieu utilisé pour la culture des micro-organismes peu exigeants, est un milieu d'isolement non sélectif, permet de contrôler la pureté d'une souche bactérienne ou de purifier la souche bactérienne si elle est contaminée. Elle contient d'un composant essentiel qui est l'agar, ce dernier est considéré comme un agent de solidification.

Le bouillon nutritif

Le bouillon nutritif est un milieu de culture naturel, préparé à partir de substances naturelles :

La peptone 10 g

Extrait de bœuf 1g

Extrait de levure 2g

Chlorure de sodium 5g

pH = 6,8 et t = 25°C

Le bouillon nutritif est un milieu utilisé pour la culture de micro-organismes sans exigences particulières. Ce bouillon de culture est utilisé en culture microbiologique, notamment pour la reproduction de bactéries.

2.2 Préparation des solutions

2.2.1 La solution mère

Dans une fiole contenant 150ml de bouillon nutritif, à l'aide d'une pince stérile par flambage au bec bunsen nous prenons 3 feuilles et les insérons dans une fiole, puis nous la fermons avec para film et le tout est mis à agiter sur un agitateur magnétique pendant 1 heure. Cette dernière opération a pour but de décrocher les microorganismes de la surface des échantillons et maximiser le nombre de bactéries potentiellement cultivables. La solution obtenue est appelée solution mère.

2.2.2 La série des dilutions

A l'intérieur d'un tube à essai contenant 9 ml de bouillon nutritif, nous ajoutons 1 ml de la solution mère en tenant compte des conditions de stérilisation nécessaires, puis du processus d'agitation qui a lieu après chaque dilution (Fig. 15).

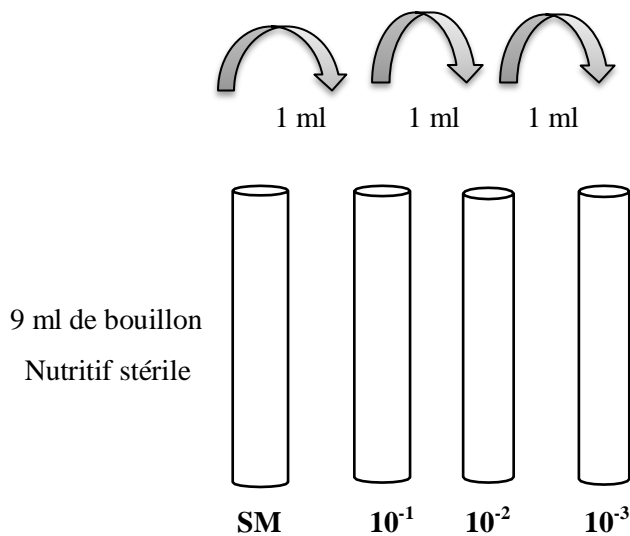


Figure 15. Série des dilutions

3 Isolements de la flore microbienne

3.1 Isolements sans l'utilisation d'antifongique

Une quantité de 100 μ l de chaque dilution est étalée sur les boîtes de Pétrie contenant de la gélose nutritive (GN) (à l'aide d'un râteau). Pour chaque dilution 3 répétitions sont réalisées.

Les boîtes sont mises à incuber à l'étuve pendant 24 h (aucun résultat observé) et à 72h (le début de l'observation des résultats) à 30°C (Fig. 16).



Figure 16. Trouble observé dans le tube de BN (en l'absence d'ATF)

3.1.1 Purifications

Une colonie est prélevée de la boîte de Pétri précédente et ensemencée en surface à l'aide d'une anse de platine et par la méthode de trois cadrans dans des nouvelles boîtes de pétri contenant la GN préalablement coulée. L'opération est réalisée avec 2 répétitions pour chaque dilution. Les boîtes sont mises à incuber à l'étuve pendant 24 h à 30 °C (Fig. 17).



Figure 17. Les boîtes de GN coulées

3.1.2 Caractérisation morphologique des isolats

3.1.2.1 Observation macroscopique des colonies bactériennes

C'est une étude morphologique qui correspond à l'observation visuelle des colonies qui sont apparus sur milieu GN. Cette observation met en évidence les différents caractères d'identification macroscopique tels que :

- La forme : de nombreuses espèces bactériennes forment des colonies rondes, cependant d'autres donnent des colonies aux formes plus ou moins variées : Circulaire, irrégulière, filamenteuse ou rhizoïde.
- Le relief (élévation) : il existe plusieurs types de reliefs chez les colonies microbiennes : Convexe, bombée, plate, bossue, en forme de cratère
- Le contour : c'est le bord de celle-ci : Régulier, ondulé, filamenteux, bouclé, lobé.

- La taille : ponctiformes, petites, moyenne, grosses, de type « envahissantes » (ne donnent aucune taille).
- La surface : rugueuse, lisse.
- La couleur :
 - Naturelle : pigments non diffusibles ou des pigments diffusibles.
 - Ou dû à un colorant.
- L'opacité: opaques, translucides .
- La consistance : sèches, crémeuses, muqueuses.

3.1.2.2 observations microscopiques

Afin de réussir une observation microscopique on fait une coloration des cellules, Deux types sont réalisés, une coloration au bleu de méthylène et l'autre une coloration de Gram

a. Coloration au bleu de méthylène ou chlorure de méthylthioninium

La coloration au bleu de méthylène est une coloration simple et rapide, économique et d'usage courant où un seul colorant est utilisé pour souligner des structures particulières dans l'échantillon, la forme (la taille et la disposition des bactéries). Les microorganismes d'un échantillon seront de la même couleur, même si l'échantillon contient plus d'un type de microorganisme.

Sur un plan scientifique, la Gram sera plus informatif (Fig.18).

- Préparation du frottis :

- à l'aide d'une anse de platine, une colonie avec une goutte de l'eau distillée sont ajouté dans une lame.
- étaler bien le mélange et ça s'appelle fixer sur le bec bunsen

-mettre le bleu de méthylène sur le frottis et attendre 1 minute.

-rincer la lame par l'eau distillée et sécher la lame doucement avec un papier.

-l'observation au microscope par l'objectif x100 avec l'utilisation d'huile d'immersion.



Figure 18. Les étapes de la technique de coloration au Bleu de Méthylène (microbiologie clinique, 2022).

b. Coloration de Gram

C'est une coloration complexe qui permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne (Gram positif ou négatif), cela permet de différencier et de classer les différentes populations de microorganismes. Donner une information rapide, facile sur les bactéries dans un produit ou un milieu, tant sur le type que sur la forme (Fig.19).

-Préparation d'un frottis.

- mettre le violet de gentiane sur la lame et laisser agir 1 minute, puis rincer à l'eau de robinet.

-mordançage au Lugol : recouvrir de Lugol et laisser agir le même temps de cristal violet.

-décoloration à l'alcool : verser goutte à goutte l'alcool sur la lame incliné et laisser pendant 30 secondes, puis rincer la lame avec l'eau de robinet.

-recoloration à la fushine : mettre quelque gouttes de fushine, et laisser agir 1 minute puis laver doucement à l'eau de robinet.

- sécher la lame par un papier.

- observer avec une goutte d'huile d'immersion par l'objectif x100.

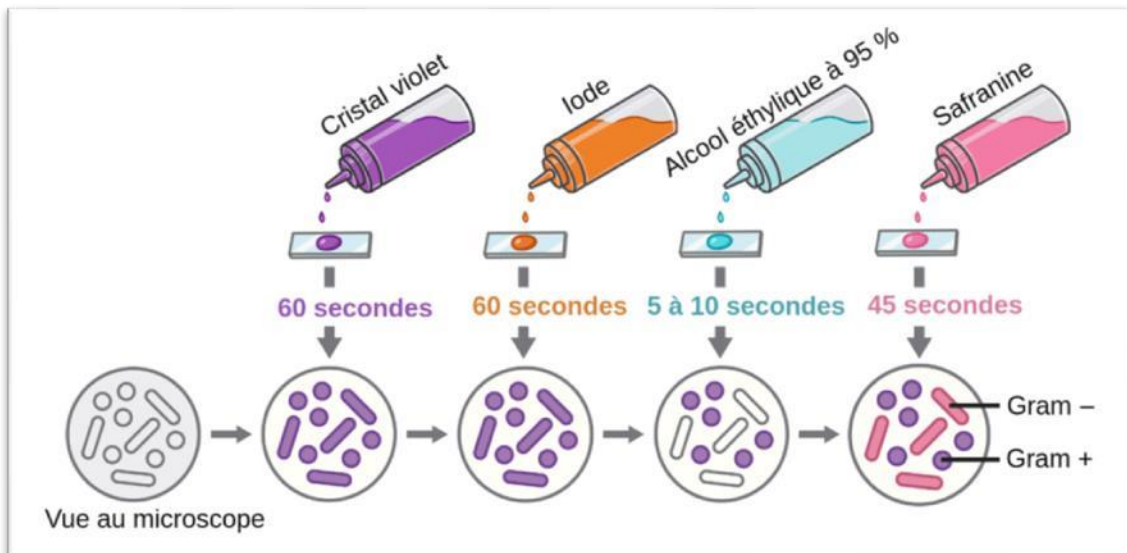


Figure 19. Les étapes de la technique de coloration de Gram (microbiologie clinique, 2022).

3.2. L'isolement avec l'utilisation d'un antifongique (ATF)

Nous utilisons un ensemble de tubes contenant 10 ml de BN auxquels nous ajoutons 1000 μ l d'ATF. Une colonie est prélevée à partir de la boîte précédente (d'isolement), puis à l'aide d'une anse de platine on prélève et on inocule une nouvelle boîte contenant de la GN par la méthode des trois cadrans. L'opération est réalisée avec 2 répétitions pour chaque dilution. Les boîtes sont mises à incuber à l'étuve pendant 24 h à 30°C (Fig. 20).



Figure 20. Trouble observé dans le tube de BN (en présence d'ATF).

II – Résultats et Discussion

1 Mise en évidence des microorganismes présents sur les feuilles de vigne

Afin d'évaluer la flore microbienne des feuilles de Muscat de Hambourg, nous nous sommes appuyés sur les résultats de l'observation à l'œil nu (macroscopique) et l'observation microscopique de chacune des dilutions préparées.

1.1 Analyse macroscopique sur la gélose nutritive

Après incubation des différentes dilutions et de la solution mère qui a duré 72h, nous avons enregistré les observations consignées dans le tableau 1. Ceci après avoir observé un trouble et un voile au niveau des tubes dilués signifiant une culture positive. **La figure (21)** montre la présence d'une assez grande charge microbienne de colonies, ceci après 72 h d'incubation, la majorité formant un tapis et les autres colonies sont séparées et de différentes tailles et couleur.

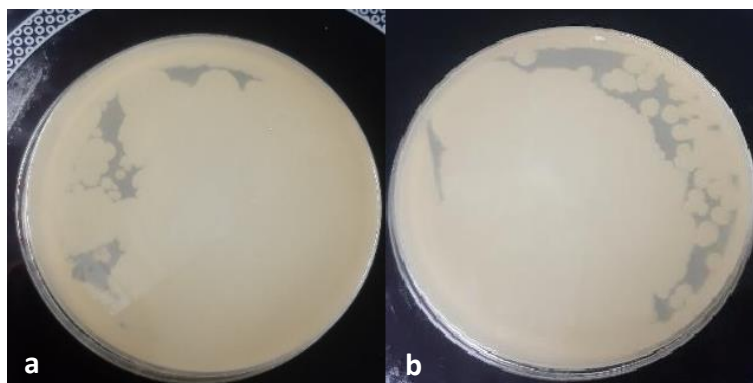


Figure 21. Observation macroscopique sur GN. a. boîte n°1(10^{-1}),b. boîte n°2(10^{-2}).

1.2 Dénombrement des colonies

À partir des dilutions et des boîtes de pétri obtenus, nous avons déterminés l'abondance de chaque type de colonie.

Le nombre est exprimé en UFC (Unité Formant Colonie) (Tabl.1).

Tableau 1 : Nombre de colonies microbiennes dans chaque boîte de pétrie en UFC.

Délitiions et numéro des boites	SM	10-1			10-2			10-3		
Nombre par UFC	Tapis	1	2	3	1	2	3	1	2	3
		Tapis	tapis	45	5	tapis	Tapis	Tapis	tapis	4

2. Isolements des microorganismes sans l'utilisation de l'antifongique

L'observation à l'œil nu, à partir des tubes des dilutions qui ne contient pas de l'ATF.

L'apparition du trouble et le voile indique que le résultat positif.

2.1. Dénombrement des colonies

On fait une observation après 24 h d'incubation pour déterminer l'abondance de chaque type de colonies à la surface de GN (Fig. 22) (Tab 2 et 3).

Tableau 2 : Nombre de colonies microbiennes dans chaque boîte de pétrie en UFC.

Dilution	SM	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
UFC	2 + Tapis	tapis	7	4 + Tapis



Figure22. Croissance des isolats en l'absence d'ATF

Tableau 3 : Aspect macroscopique des colonies isolées.

Critère		Couleur	Bordure	Forme	Taille	Élévation	Structure de la surface
Colonie							
10 ⁻¹	B1	Jaune et blanche	Régulière	Ronde	Petite	Elevé	Lisse
	B2	Jaune	Régulière	Ronde	Petite	Elevé	Lisse
	B3	Blanche	Régulière	Ronde	Grande	Plane	Lisse
10 ⁻²	B1	Jaune	Régulière	Ronde	Petite	élevé	Lisse
	B2	Jaune	Irrégulière	Ondulé	Moyenne	élevé	Séché
	B3	Jaune	irrégulière	Ondulé	Moyenne	élevé	Séché
10 ⁻³	B1	Jaune	régulière	Ronde	Petite	élevé	Lisse
	B2	Jaune	régulière	Ronde	Petite	élevé	Lisse
	B3	Jaune	régulière	Ronde	Petite	élevé	Lisse

3. Isolement des microorganismes avec l'utilisation d'un ATF

Après une incubation de 24 h à 30°C la présence de trouble et l'anneau indique que le résultat est positif dans les dilutions et la SM.

3.1. Dénombrement sur GN

Afin de compter la croissance bactérienne des isolats et déterminer l'abondance de chaque type des colonies, on fait une observation visuelle (Fig. 23)(Tab.4).

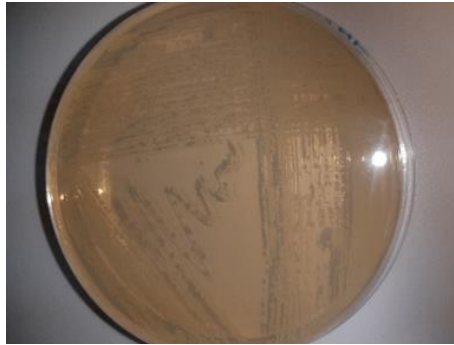


Figure 23. Croissance des isolats en présence d’ATF

Tableau 4 : Nombre de colonies microbiennes dans chaque boîte de pétrie en UFC.

Dilution	SM	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
UFC	tapis	2	7	4 + tapis

Ce résultat indique que les microorganismes présents sont des bactéries. (En présence et en absence d’ATF). Le but D’ATF a été l’inhibition de la croissance des champignons et l’empêchement de leur multiplication dans les milieux d’ensemencement, donc à partir de résultat on peut confirmer que la feuille de vigne présente une biodiversité bactérienne cultivable (Tab.5).

Tableau 5 : Aspect macroscopique des colonies isolées.

Critère		Colonie	Bordure	Taille	Forme	Elévation	Structure de la surface
Colonie							
10⁻¹	B1	Jaune + Blanche	Régulière	Petite	Ronde	élevé	Lisse
	B2	Jaune	Régulière	Petite	Ronde	Elevé	Lisse
	B3	blanche	Régulière	Grande	Ronde	Plane	Lisse
10⁻²	B1	Jaune	Régulière	Petite	Ronde	Elevé	Lisse
	B2	Jaune	Irrégulière	moyenne	Ondulé	Elevé	Sèche
	B3	Jaune	Irrégulière	moyenne	Ondulé	Elevé	Sèche
10⁻³	B1	Jaune	Régulière	petite	Ronde	Elevé	Lisse
	B2	Jaune	Régulière	petite	Ronde	Elevé	Lisse
	B3	Jaune	Régulière	petite	Ronde	Elevé	Lisse

4. Observation microscopique

4.1 Observation après coloration par le bleu de méthylène

Nous avons utilisé deux boîtes (en présence et l'absence d'ATF), dans les deux cas l'observation microscopique a montré que les bactéries obtenues à partir des formes cellulaires, sont de forme bacilles et leur mode de regroupement est diplobacille de couleur bleu (Fig. 24).

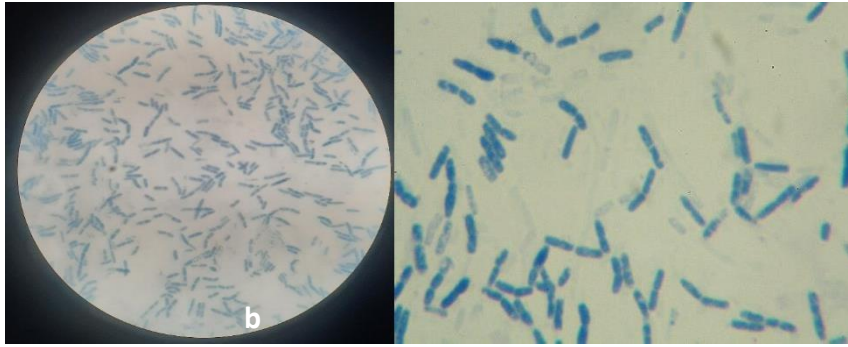


Figure 24. Observation microscopique des cellules (le Bleu de Méthylène) X 100.

4.2 Observation après coloration de Gram

En présence et en absence d'ATF, Les observations dans ce cas ont concernés trois isolats prises respectivement des colonies (a, b, c) et qui ont subi une coloration de Gram. L'isolat a est prélevé à partir d'une colonie blanche, l'isolat b est prélevé à partir d'une colonie jaune de forme ondulé et enfin l'isolat c est prélevé à partir d'une colonie jaune de forme ronde (Fig 25).

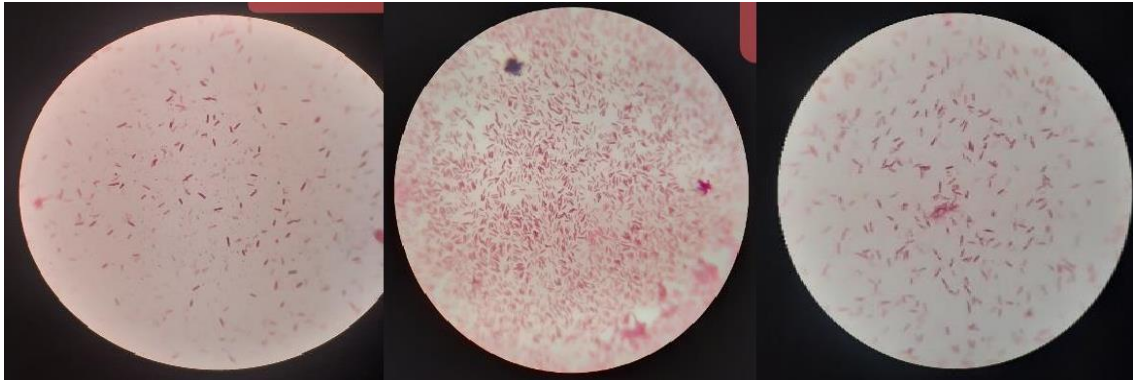


Figure 25. Observation microscopique des cellules (coloration de Gram).

Le résultat montre que les trois isolats sont de forme bacille, leur mode de regroupement est diplobacille, et sont de couleur rose donc on peut dire que ces isolats sont de Gram négatif (Fig.26).

Discussion générale

La présence d'une diversité microbienne (bactéries, champignons, levures, ...) sur les feuilles de la vigne analysées est démontrée par la présence d'un trouble et d'un voile dans toutes les solutions observées. Pour se faire, nous avons utilisé au départ un milieu de culture non sélectif pour permettre le développement de la majorité des microorganismes se trouvant sur les feuilles de notre échantillon.

Les microbes sont nombreux, chacun avec temps de croissance spécifique et différente selon le genre. Nous avons choisi deux durées différentes pour l'incubation 24 h et 3 jours, pour obtenir le développement du plus grand nombre de microorganismes. On fait pour chaque incubation une analyse macroscopique a été réalisé pour distinguer les différentes morphologiques des colonies et une autre microscopique pour la forme des cellules.

Les résultats macroscopiques après 24h d'incubation sur GN n'ont donné aucune colonie, au contraire après 3 j, nous avons obtenu des colonies bien distinctes, de différentes formes et types ainsi que les tailles. Comme dans les boites de 10^{-1} des colonies de grande taille sont apparues et dans les boites de 10^{-2} et 10^{-3} des colonies de petite taille, moins nombreuses et plus visibles. Ce résultat est aussi valable pour les boites traitées avec l'ATF.

Afin d'identifier et de déterminer la forme des cellules composant les colonies apparues sur GN, nous avons effectué une observation microscopique, après l'application de deux types de coloration (coloration au bleu de méthylène et coloration de Gram). Ces deux colorations sont souvent des outils appliqués en microbiologie pour estimer l'identification d'une bactérie (Delarras., 2007). La première coloration confirme la présence de certaines bactéries sur notre échantillon et les cellules colorables apparaissent en bleu sous forme de bacille. La deuxième coloration nous a donné des cellules roses, avec une forme bacillaire et un mode de regroupement en chaînette, ceci indique que les bactéries obtenues sont des Gram négatif.

L'analyse macroscopique et microscopique des isolats avec ces deux types de coloration, nous a permis de dire qu'il existe une diversité bactérienne sur les feuilles de la vigne, et nous ont permis d'identifier quelques genres notamment : *Entérobacter* et *Pseudomonas* (ceci au stade de coloration, il faut des tests).

Les résultats d'une étude précédemment réalisée sur les feuilles de la vigne (en 2021) est utilisée dans ce travail à titre comparatif, pour évaluer la charge bactérienne sur les feuilles de la vigne appartenant à deux sites de prélèvement différent (El Harrouch et Emjez Edchich) (Tab. 6).

Tableau 6 : tableau comparatif entre les deux sites étudiés

Comparaison	Etude 2021 (El Harrouch)	Etude 2022 (Emjez Edchich)
Nombre de colonies après quelques jours	117	57
Nombres d'isolats analysés selon la couleur	7	2
Les couleurs les plus abondantes	Blanche petite Orange moyenne Jaune petite Rose petite Jaune grande Transparente grande	Jaune petite Blanche grande
Croissance sur bouillon nutritif avec ATF	Trouble	Trouble et anneau
Croissance sur bouillon sans ATF	Trouble	Trouble et l'anneau
La forme des colonies la plus dominante	Cocci	Bacille
Le Gram le plus abondant	Négatif	Négatif
Les genres bactériens obtenus	<i>Lactobacilles</i> <i>Staphylocoque</i> <i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas</i> <i>Entérobactéries</i>

Il ressort de cette comparaison qu'il n'existe pas de grandes différences entre les deux sites, bien au contraire elle nous permet de voir qu'il y a plus de genres qui colonisent l'espace feuilles de ces vignes. Les petites différences que nous avons constaté sont beaucoup plus liés à la charge bactérienne entre les deux sites (117 et 57) et les genres occupant les deux espaces.

Donc, nous pouvons supposer que les deux sites ont les mêmes occupants, avec des charges bactériennes légèrement différentes en raison du sens des vents, de leur position géographique et la pédologie des sols. En finalité, nous ne pouvons pas statuer sur la diversité bactérienne de la vigne qu'après avoir travaillé sur un échantillon plus important et une analyse microbiologique poussée.

Conclusion
et
Perspectives

Ce travail est réalisé dans l'objectif de la mise en évidence de la diversité microbienne de la flore phyllosphérique associée aux plantes en général et à la diversité bactérienne associées à la surface des feuilles de vigne en particulier. Dans ce présent travail la variété « Muscat de Hambourg » est la vigne sur laquelle nous avons mené cette étude. L'identification des microorganismes procède selon les principes classiques de comparaison à d'autres organismes connus pour définir ressemblances et différences, cette technique basée sur la caractérisation phénotypique des communautés microbiennes présentes sur la feuille de vigne, une analyse morphologique classique est appliquée.

D'après les observations macroscopiques et microscopiques on conclut qu'une grande diversité microbienne est présente sur les feuilles de la vigne. Cette diversité est traduite par la présence de bactéries majoritairement à Gram négatif, ceci est confirmé par l'utilisation de coloration via la coloration de Gram et le bleu de méthylène et par la comparaison de la croissance microbienne en absence et en présence d'ATF.

Parmi les genres bactériens majoritaires estimés être présents sur la surface des feuilles sont : *Pseudomonas* et *Entérobactéries*, ces derniers peuvent devenir nocifs ou bénéfiques pour la vigne, selon l'espèce.

Suite à cette analyse nous pouvons désigner (énumérer) quelques points essentiels :

- la procédure d'identification phénotypique utilise un large éventail de caractères (morphologie, motilité...)
- les méthodes phénotypiques sont acceptables seulement si les critères de réponse suffisent à identifier le microorganisme et à le distinguer des organismes phylogénétiquement apparentés.
- malgré les limites de cette technique, elle a pu donner une orientation ou identification de quelques genres bactériens.
- l'analyse phénotypique doit être appuyée par des données provenant d'autres méthodes plus fiables comme celles de la biologie moléculaire, cette dernière est actuellement prédominante en particulier pour la détermination des pathogènes.

Lorsqu'on compare les résultats de cette étude avec les analyses de l'année précédente on trouve une assez grande diversité selon le type et le nombre de la flore phyllosphérique de chacune des variétés de vigne. Donc, l'exploration de la diversité microbienne de chaque

variété serait une étude intéressante pour découvrir la composante microbienne dans les parties aérienne du vignoble à savoir le tronc, le fruit, ...

Références

Bibliographiques

- Agouazi, O. (2013).** *Contribution à la caractérisation physico-chimique de cépages de Vitis vinifera ssp vinifera autochtones d'Algérie.* Mémoire de Magister en Sciences Agronomiques : Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Algérie.P70.
- Alexandra.** Les maladies de la vigne [en ligne]. (Page consulté le 16/06/2022.)
<https://www.vigneronly.fr/les-maladies-de-la-vigne/#:~:text=Les%20ravageurs%20de,souffre%20ou%20pr%C3%A9dateurs.>
- Bai, Y.Müller, DB. Srinivas, G.et al. (2015).** Functional overlap of the Arabidopsis leaf and root microbiota. *Nature* 528.P364–369.
- Balogh B, Nga NTT, Jones JB. (2018).** Relative level of bacteriophage multiplication in vitro or in phyllosphere may not predict in planta efficacy for controlling bacterial leaf spot on tomato caused by *Xanthomonas perforans*. *Frontiers in Microbiology* 9.P10.
- Beattie, G.A. Lindow, S.E. (1999).** Bacterial colonization of leaves: a spectrum of strategies. *Phytopathology* 89, (5), P 353–359.
- Bessis, R. Bugnon, F. (1968).** *Biologie de la vigne. Aquisitions récentes et problèmes actuels de morphologie de botanique et de la biologie végétale.* Ed. Moisson Paris.1-160p. Bodenhausen, N. Bortfeld-Miller, M. Ackermann, M. Vorholt, JA. (2014). A synthetic community approach reveals plant genotypes affecting the phyllosphere microbiota. *PLoS Genetics* 10, e1004283.
- Bodenhausen, N. Horton, MW. Bergelson, J. (2013).** Bacterial communities associated with the leaves and the roots of *Arabidopsis thaliana*. *PLoS One* 8, e56329.
- Braga, RM. Dourado, MN. Araújo, WL. (2016). Microbial interactions: ecology in a molecular perspective. *Brazilian Journal of Microbiology* 47 Suppl 1. P 86–98.
- Bounab, O. (2013).** *Influence de l'ablation des prompt-bourgeons sur la croissance du rameau principal de la vigne (Vitis vinifera L.) : mise en évidence des corrélations de croissance.* Thèse de magister : Agronomie. Université 20 Août 1955, Skikda. P65.
- Bringel, F. Couée, I. (2015).** Pivotal roles of phyllosphere microorganisms at the interface between plant functioning and atmospheric trace gas dynamics. *Frontiers in Microbiology* 6, 486
 Beattie GA. Lindow, SE. (1999). Bacterial colonization of leaves: a spectrum of strategies. *Phytopathology* 89.P 353–359.
- Carlstrom, C.I. Field, C.M. Bortfeld-Miller, M. Muller, B. Sunagawa, S. and Vorholt, J.A. (2019).** Synthetic microbiota reveal priority effects and keystone strains in the *Arabidopsis* phyllosphere. *Nat Ecol Evol*.3(10). P 1445–1454.
- Chloé, C. (2017).** Recherche de marqueurs moléculaires de la tolérance de la Vigne à *Eutypa lata*. Compréhension des mécanismes physiologiques impliqués. Thèse doctorat. Université de Poitiers. Faculté des Sciences Fondamentales et Appliquées.P129.
- Cordeau, J. (1998).** Création d'un vignoble. Greffage de la vigne et porte-greffes. Elimination des maladies à virus. Ed. Féret_Bordeaux. p 182.

- Cordier, T. Robin, C. Capdevielle, X. Fabreguettes, O. Desprez-Loustau, M-L. Vacher, C. (2012).** The composition of phyllosphere fungal assemblages of European beech (*Fagus sylvatica*) varies significantly along an elevation gradient. *New Phytologist*, 196(2). P 510-519.
- Dubos, B. (1999).** Les maladies cryptogamiques de la vigne. Ed. Fréret Bordeaux.P174.
- Dubos, B. (2002).** Maladies cryptogamiques de la vigne 2nd. ED. Féret Eds. P 208.
- Dufour, M-C. (2011).** Etude de l'efficacité des défonceuses de différents génotypes de *Vitis* induites par élicitations face à la diversité génétique de bioagresseurs (*Plasmopara viticola* et *Erysiphe necator*) : du gène au champ. Thèse de doctorat : Biologie Cellulaire et Physiopathologie. Université Bordeaux - Victor Segalen. P 384.
- Elias, S.Banin, E. (2012).** Multi-species biofilms: living with friendly neighbors. *FEMS Microbiology Reviews* 36(5). P 990–1004.
- Enfin, FT. (1955).** L'incidence saisonnière de *Sporobolomyces* sur les feuilles de céréales. *Transactions de la British Mycological Society*. 38 (3). P 221-239. doi: 10.1016 / s0007-1536 (55)80069-1.
- Esser, D.S. Leveau, J.H. Meyer, K.M. and Wiegand, K. (2015).** Spatial scales of interactions among bacteria and between bacteria and the leaf surface. *FEMS Microbiol Ecol*. 91(3): fiu034.
- Faostat, (2012).** Food and Agriculture Organisation of the United Nations Data. Statistics database. [en ligne]. <http://faostat.fao.org/default.aspx?lang=en>
- Frank, AC. Saldierna Guzmán, JP. Shay, JE. (2017).** Transmission of bacterial endophytes. *Microorganisms* 5(4), P 70. doi: 10.3390/microorganisms5040070.
- Fu, S.-F. Sun, P.-F. Lu, H.-Y. Wei, J.-Y. Xiao, H.-S. Fang, W.-T. et al. (2016).** Plant growth-promoting traits of yeasts isolated from the phyllosphere and rhizosphere of *Drosera spatulata* Lab. *Fungal Biol*. 120(3), P 433–448. doi : 10.1016/j.funbio.2015.12.006.
- Isnard, H. (1949).** Vigne et colonisation en Algérie. In : *Annales de Géographie*, t [en ligne]. 58, n°311,1949. pp. 212-219. DOI : <https://doi.org/10.3406/geo.1949.12660>.
- Galet, P. (1993).** Précis de viticulture. (6eme édition). Déhan, Montpellier.P 612.
- Galet, P. (1993).** Précis de viticulture (6émé ed). Déhan Montpellier – France. P575.
- Galet, P. (1995).** Précis de pathologie viticole.Ed. Déhan Montpellier.P 345.
- Galet, P. (1998).** Précis de viticulture (7 éme ed). Déhan. Montpellier. P561.
- Galet, P. (2000).** Dictionnaire encyclopédique des cépages.Ed . Hachette, Paris.
- Galet, P. (2000).** Précis de pathologie viticole. (7eme ed). Déhan Montpellier. P602.
- Guillaume, G. (2010).** Bases scientifiques et technologiques de la viticulture Lavoisier, 2ème édition. P 4 – 6.
- Hallmann, J. Mahaffee, WF. Klopper, JW. (1997).** Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology* 43(10), P 895–914.
- Halouane, C. (2007).** influence du deuxième bioproduitifs de la vigne *vitis vinifera* L : Variété cardinale de la station expérimentale de l'ITAF. Mémoire de fin d'étude : science agronomie, Alger.P12.

- Hassani, M.A. Duran, P. and Hacquard, S. (2018).** Microbial interactions within the plant holobiont. *Microbiome* 6 (58), P17.
- Huglin, P. (1986).** Biologie et écologie de la vigne édit. Payot Lausanne. P22-25.
- Huglin, P. Schneider, C. (1998).** Biologie et écologie de la vigne (2ème édition). Tec & Doc (Editions). France. P 370.
- Kadivar, H. Stapleton, A. E. (2003).** Ultraviolet radiation alters maize phyllosphere bacterial diversity. *Microbial Ecology* 45 (4), P 353–61.
- Kembel, S. W. O'Connor, T. K. Arnold, H. K. Hubbell, S. P. Wright, S. J. and Green, J. L. (2014).** Relationships between phyllosphere bacterial communities and plant functional traits in a neotropical forest. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 111(38), P 13715–13720. doi: 10.1073/pnas.1216057111.
- Kefi, A. Slimene, I. B. Karkouch, I. Rihouey, C. Azaeiz, S. Bejaoui, M. et al. (2015).** Characterization of endophytic *Bacillus* strains from tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) displaying antifungal activity against *Botrytis cinerea* Pers. *World J Microbiol Biotechnol.* 31(12), P 1967–1976. doi: 10.1007/s11274-015-1943-x.
- Khalem, A. (2017).** Evaluation des activités antioxydants et antimicrobiennes des extraits de la vigne rouge *Vitis vinifera* sp, la wilaya de Boumerdes. P4.
- Kinkel, L.L. (1997).** Microbial population dynamics on leaves. *Annu Rev Phytopathol* 35. P327–347.
- Lacey, J. (1996).** Spore dispersal – its role in ecology and disease: the British contribution to fungal aerobiology. *Mycol Res* 100.P 641–660.
- Lamb, T.G. Tonkyn, D.W. and Kluepfel, D.A. (1996).** Movement of *Pseudomonas aureofaciens* from the rhizosphere to aerial plant tissue. *Can J Microbiol* 42(11), P 1112–1120.
- Lambais, M. R. Barrera, S. E. Santos, E. C. Crowley, D. E. and Jumpponen, A. (2017).** Phyllosphere metaproteomes of trees from the Brazilian Atlantic forest show high levels of functional redundancy. *Microbial Ecology*, vol 73. P123–134. Doi : 10.1007/s00248-016-0878-6.
- Levadoux, I. (1956).** Possibilité naturelles offertes à la culture des raisins de table en Algérie. Mémoire de fin d'étude : Biochimie appliquée. El OUED : Université Echahid Hamma Lakhdar .P 77.
- Lighthart, B. (1997).** The ecology of bacteria in the alfresco atmosphere. *FEMS Microbiol Ecol* 23. P 263–274.
- Lindemann, J. Constantinidou, H.A. Barchet, W.R. and Upper, C.D. (1982).** Plants as sources of airborne bacteria, including ice nucleation-active bacteria. *Appl Environ Microbiol* Vol 44(5), P 1059–1063.
- Lindow, S.E. Brandl, M.T. (2003).** Microbiology of the phyllosphere. *Applied and Environmental Microbiology* 69.P 1875–1883.
- Li, S.-B. Fang, M., Zhou, R.-C. Huang, J. (2012).** Characterization and evaluation of the endophyte *Bacillus* B014 as a potential biocontrol agent for the control of *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* – induced blight of *Anthurium*. *Biological Control* 63. P 9–16. doi: 10.1016/j.biocontrol.2012.06.002.

- Lopez-Velasco, G. Carder, P. A. Welbaum, G. E. and Ponder, M. A. (2013).** Diversity of the spinach (*Spinacia oleracea*) spermosphere and phyllosphere bacterial communities. *FEMS Microbiol. Lett.* 346(2), P 146–154. doi: 10.1111/1574-6968.12216.
- Manceau, C.R. and Kasempour, M.N. (2002).** In Endophytic versus epiphytic colonization of plants: what comes first? In *Phyllosphere Microbiology* ed. Lindow, S.E. Hecht-Poinar, E.I. and Elliott, V.J. pp. 115–123 St Paul, USA: APS Press.
- Mansour, R. Ayed, L. Hammami, S. Dhaouadi, S. Dhaouadi, H. Bakharouf, A. Mighri, Z. et Mhenni, F. (2011).** Propriétés tinctoriales et Activités antibactériennes d’extraits de feuilles de *Vitis vinifera* L. de Tunisie. *Tunisian Journal of Medicinal Plants and Natural Product* 6. P 126-132.
- Maignien, L. DeForce, EA. Chafee, ME. Eren, AM. Simmons, SL. (2014).** Ecological succession and stochastic variation in the assembly of *Arabidopsis thaliana* phyllosphere communities. *mBio* 5(1), e00682–e00613.
- Morris et al., (1997).** La phyllosphère (interactions plantes-microorganismes à la surface des feuilles) [en ligne]. (Page consulté le 03-02-2020.) « <https://www.verdeterreprod.fr/la-phyllosphere-interractions-plantes-microorgnismes-a-lasurface-des-feuilles> ».
- Redford, AJ. Fierer, N. (2009).** Bacterial succession on the leaf surface: A novel system for studying successional dynamics. *Microbial Ecology* 58. P 189–198.
- Reynier, A. (1989).** Manuel de viticulture (5e édition). Paris : J.L. Bailliere.P 406.
- Ribereau-Gayon, G. et Peynaud, E. (1980).** Sciences et techniques de la vigne, traité d’ampélogie. Tome 1. ED DUNOD. Parie. P 725.
- Sadi Ali, S. Sekher, R. (2009).** Contribution à l’étude des maladies du bois de la vigne en particulier l’Eutypiose au niveau de la commune de Tadmaït-wilaya de Tizi-ouzou. *Memoire de fin d’étude : Science agronomie* .3p.
- Saleem, M. Meckes, N. Pervaiz, Z. H. and Traw, M. B. (2017).** Microbial interactions in the phyllosphere increase plant performance under herbivore biotic stress. *Front. Microbiol.* 8:41. doi: 10.3389/fmicb.2017.00041.
- Sapp, M. Ploch, S. Fiore-Donno, AM. Bonkowski, M. Rose, LE. (2018).** Protists are an integral part of the *Arabidopsis thaliana* microbiome. *Environmental Microbiology* 20. P 30–43.
- Saraoui, n. (2006).** Vision-perspective de développement de la viticulture. *Revue : Green Algérie. Agriculture et destin commun os.* P 18-20.
- Shivas, RG. Brown, JF. (1984).** Identification and enumeration of yeasts on *Banksia collina* and *Callistemon viminalis* leaves. *Transactions of the British Mycological Society* 83. P 687_689.
- Stone, BWG. Weingarten, EA. Jackson, CR. (2018).** The role of the phyllosphere microbiome in plant health and function. *Annual Plant Reviews*, vol 1.P 1–24.
- Simoun, JL. Green, J. et Abbitt, R. (2013).** GIS textbook content as a basis for skill development in map interpretation. *Cartographica.* 48(1). P38-46.
- Suslow, T.V. (2002).** Production practices affecting the potential for persistent contamination of plants by microbial foodborne pathogens. In *Phyllosphere Microbiology* ed. Lindow, S.E. Hecht-Poinar, E.I. and Elliott, V.J. pp. 241–256 St Paul, USA: APS Press.
- Teixeira, PJP. Colaianni, NR. Fitzpatrick, CR. Dangl, JL. (2019).** Beyond pathogens: microbiota interactions with the plant immune system. *Current Opinion in Microbiology*, vol 49.P 7–17.

- Thompson, IP. Bailey, MJ. Fenlon, JS. Fermor, TR. Lilley, AK. Lynch, JM. McCormack, PJ. McQuilken, MP. Purdy, KJ. Rainey, PB, et al. (1993).** Quantitative and qualitative seasonal changes in the microbial community from the phyllosphere of sugar beet (*Beta vulgaris*). *Plant and Soil* 150.P 177–191.
- Trouvelot, S. Héloir, M-C. Poinssot, B. Gauthier, A. Paris, F. Guillier, C. Combier, M. TrdÃ, L. Daire, X. Adrian, M. (2014).** Carbohydrates in plant immunity and plant protection: roles and potential application as foliar sprays. *Frontiers in Plant Science* 5. P1–14.
- Venette, J.R. and Kennedy, B.W. (1975).** Naturally produced aerosols of *Pseudomonas glycinea*. *Phytopathology* 65.P 737–738.
- Venkatachalam, S. Ranjan, K. Prasanna, R. Ramakrishnan, B. Thapa, S. and Kanchan, A. (2016).** Diversity and functional traits of culturable microbiome members, including cyanobacteria in the rice phyllosphere. *Plant Biol* 18. P 627–637. doi: 10.1111/plb.12441.
- Vorholt, JA. (2012).** Microbial life in the phyllosphere. *Nature Reviews Microbiology* 10. P 828–840.
- Walters, J. Campbell, A. Kellogo, A. steven, P. (2002).** Botanique systématique une perspective phylogénétique (1ère édition). Paris. P 238, 239.
- Wilson, M., Hirano, S.S. and Lindow, S.E. (1999).** Location and survival of leaf-associated bacteria in relation to pathogenicity and potential for growth within the leaf. *Appl Environ Microbiol* 65. P1435–1443.
- WI, Ng. Bassler, BL. (2009).** Bacterial quorum-sensing network architectures. *Annual Review of Genetics* 43. P 197–222.
- Wulff, E.G., Van Vuurde, J.W.L. and Hockenhull, J. (2003).** The ability of the biological control agent *Bacillus subtilis*, strain BB, to colonise vegetable brassicas endophytically following seed inoculation. *Plant Soil* 255. P463–474.
- Youness Zayd. (2017).** Etude des techniques de multiplication et d’amélioration de la vigne Biotechnologie et Valorisation des Phyto-Ressources. Thèse de licence sciences et techniques, université Sidi-Mohamed Ben Abdellah, Fes. P34.
- Zak, J.C. (2002).** Implications of a leaf surface habitat for fungal community structure and function. In *Phyllosphere Microbiology* ed. Lindow, S.E., Hecht-Poinar, E.I. and Elliott, V.J. pp. 299–315 St Paul, USA: APS Press.

Année universitaire : 2021-2022	Présenté par : ZETTAL Chahrazed DERDOURI Aya Lina HAMIDA Fatima
Contribution à l'étude comparative de la phyllosphère des feuilles du raisin de table de deux sites de la région de Skikda.	
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Ecologie Microbienne	
<p>Le but de cette étude est de mettre en évidence les microorganismes poussant à la surface des feuilles de la vigne (<i>Vitis vinifera</i>) et d'essayer d'identifier et de déterminer l'abondance des cultivars. A cet effet, une analyse phénotypique est réalisée en appliquant des tests morphologiques et des comptages microbiens qui ont été effectués sur des feuilles prélevées de la variété « Muscat de Hambourg » cultivée dans la wilaya de Skikda, région d'Emjez Edchich. Les résultats obtenus à partir de ces tests ont indiqué la présence d'une diversité microbienne en général et particulièrement bactérienne sur la feuille de la vigne qui a été confirmée par l'utilisation d'un agent antifongique.</p> <p>Cette technique s'est orientée vers la présence de nombreux genres bactériens tels que <i>Pseudomonas</i>, <i>Entérobacter</i> sous forme de bacilles Gram négatif qui ont été mis en évidence par la technique de la coloration de Gram.</p> <p>Pour confirmer les résultats de notre étude, des techniques plus avancées et plus précises telles que des techniques fiables de la biologie moléculaire doivent être utilisées.</p>	
Mots-clefs : feuilles de vigne, analyse phénotypique, phyllosphère, <i>Vitis vinifera</i> , diversité bactérienne	
Laboratoires de recherche : Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire (Université Frères Mentouri, Constantine 1).	
Encadreur : Mr BENHIZIA Yacine Examineur 1 : Mme. DEKKICHE Samia Examineur 2 : Mr. GUERGOURI Ibtissem	Pr. – U. Frères Mentouri Constantine 1. MCB – U. Hadj Lakhdar. Batna 2. MAA- U. Frères Mentouri Constantine 1.