

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou  
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques  
Département des Sciences Biologiques



## Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie  
Option : Biologie des populations et des organismes

Thème

**Etude de la microflore bactérienne associée à la rhizosphère et à la mycorhizosphère du chêne vert (*Quercus ilex*) de Tala Guilef dans la région de Tizi Ouzou.**

Réalisé par : CHIKHOUN Juba

DENNI Mohamed.

Soutenu Le : 06/07/2023

Devant le jury composé de :

Présidente : M<sup>me</sup> DJIOUA O.

Promotrice : M<sup>me</sup> TALEB TOUDERT K.

Examinatrice : M<sup>me</sup> Lamri T.

MAA (UMMTO)

MCA (UMMTO)

MAA (UMMTO)

Promotion : 2022/2023

# Remerciements

Nous tenons à exprimer notre gratitude envers tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire et d'adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apportés leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce travail.

Tout d'abord, nous tenons à remercier M<sup>me</sup> **TALEB TOUDERT K.**, Maitre de conférences à l'UMMTO et notre promotrice, pour ses conseils et son soutien tout au long du processus de recherche et qu'elle soit également remerciée pour sa disponibilité permanente, sa gentillesse et sans qui ce travail n'aurait pas vu le jour.

Toute notre reconnaissance et nos plus vifs remerciements :

A M<sup>me</sup> **DJIOUA O.** Maitre assistante A à l'UMMTO, qui nous a fait l'honneur de présider ce Jury.

A M<sup>me</sup> **LAMRI T.** Maitre assistante A à l'UMMTO qui nous a fait l'honneur d'être examinatrice du Jury.

Nous n'oublions pas bien évidemment nos parents qui se sont sacrifiés et tant soutenus le long de nos études.

Enfin, nous sommes reconnaissants envers nos amis pour leur soutien inébranlable et leurs encouragements tout au long de cette expérience académique.

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Répartition des communes avec des superficies dominées par l'espèce végétale « <i>Quercus ilex</i> » ou « Chêne vert » .....	07
<b>Tableau 2</b> : Quantification du nombre de bactéries présentes dans l'échantillon de racines mycorhizées et non mycorhizées en unité de $10^6$ germes/g de racines .....	15
<b>Tableau 3</b> : Caractéristiques biochimiques des quatre isolats bactériens.....	25
<b>Tableau 4</b> : Origines et caractéristiques morphologiques et biochimiques des isolats bactériens.....	26

# Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> <i>Quercus ilex</i> .....	03
<b>Figure 2 :</b> Chatons verts .....	03
<b>Figure 3 :</b> Glands de <i>Quercus ilex</i> .....	04
<b>Figure 4 :</b> Carte représentante de la répartition du chêne vert sur le bassin méditerranéen ...	05
<b>Figure 5 :</b> Carte représentante de la répartition du chêne vert en Algérie.....	06
<b>Figure 6 :</b> Prélèvement du sol .....	10
<b>Figure 7 :</b> Forêt de Tala Guilef .....	10
<b>Figure 8 :</b> Mycorhize blanche à longs cordons vue à la loupe binoculaire. ....	14
<b>Figure 9 :</b> Croissance bactérienne sur milieu King B, bactéries totales et gram négatif .....	14
<b>Figure 10 :</b> Densité bactérienne au niveau des racines mycorhizées et des racines non mycorhizées.....	15
<b>Figure 11 :</b> Recherche de la Citrate perméase .....	16
<b>Figure 12 :</b> Recherche de l'Uréase.....	17
<b>Figure 13 :</b> Détermination de la production d'Indole.....	17
<b>Figure 14 :</b> Recherche de la Tryptophane désaminase .....	18
<b>Figure 15 :</b> Test Triple Sugar Iron .....	19
<b>Figure 16 :</b> Croissance bactérienne dans le bouillon nitraté.....	20
<b>Figure 17 :</b> Recherche de la Nitrate réductase.....	21
<b>Figure 18 :</b> Mise en évidence de la voie de fermentation butane-diol .....	22
<b>Figure 19 :</b> Test de mobilité et fermentation du mannitol.....	23
<b>Figure 20 :</b> Recherche de la Catalase .....	24
<b>Figure 21 :</b> <i>Bacillus sp.</i> (G : 40x10) .....	27
<b>Figure 22 :</b> <i>Citrobacter sp.</i> (G : 40x10) .....	27
<b>Figure 23 :</b> <i>Micrococcus sp.</i> (G : 40x10) .....	27
<b>Figure 24 :</b> <i>Pseudomonas sp.</i> (G : 40x10) .....	27



# Sommaire

## Liste des tableaux

## Liste des figures

## Introduction ..... 01

### Partie I : Synthèse Bibliographique

I.1. Description botanique .....	03
I.1.1.Feuillage .....	03
I.1.2.Fleurs .....	03
I.1.3.Fruits .....	04
I.2. Répartition géographique de l'espèce .....	04
I.2.1.Répartition géographique dans le monde .....	04
I.2.2.Répartition en Algérie .....	05
I.3. Classification du chêne vert .....	08
I.4. Ecologie.....	08
I.5. Microflore du sol.....	08
I.6.Capacité à fixer l'azote atmosphérique.....	09

### Partie II : Matériel et méthodes

II.1.Description de la zone d'étude :.....	10
II.2.Collecte du matériel : .....	10
II.3.Technique d'étude .....	11
II.3.1.Etude quantitative des bactéries associées à <i>Quercus ilex</i> .....	11
II.3.1.1.Préparation de l'échantillon : .....	11
II.3.1.2.Isolement de bactéries à partir des mycorhizes blanches et des racines non mycorhizées de <i>Quercus ilex</i> :.....	11
II.3.1.3.Méthode de calcul du nombre de germes .....	11
II.3.1.4.Caractérisation et identification de certains isolats bactériens .....	12
II.3.1.5.Caractérisation biochimique par la mini galerie biochimique classique .....	12
II.3.1.6. Caractérisation microscopique .....	12

### Partie III : Résultats et Discussion

III.1. Résultats.....	14
III.1.1.Etude quantitative .....	14
III.1.2.Caractérisation et identification des quatre isolats bactériens .....	16
III.1.2.1.Test biochimique de citrate de simmons.....	16
III.1.2.2.Test urée indole.....	17

III.1.2.3. Recherche de l'enzyme de la Tryptophane désaminase.....	18
III.1.2.4. Test triple sugar iron (TSI).....	19
III.1.2.5. Recherche de l'enzyme de la nitrate réductase .....	20
III.1.2.6. Test Voges Proskauer (Clark & Lubs).....	22
III.1.2.7. Test Mannitol Mobilité.....	23
III.1.2.8. Test Catalase.....	24
III.1.3. Observation microscopique.....	26
III.2. Discussion.....	28
<b>Conclusion</b> .....	30

### **Références bibliographiques**

### **Annexes**

Annexe I : Milieux de culture

### **Résumé**

### **Abstract**

# Introduction

Le Chêne vert (*Quercus ilex*) de la famille des *Fagacées*, présent sous forme de bois clairs et garrigues est une espèce dominante de taillis qui constituent l'une des biocénoses les plus représentées dans le Bassin méditerranéen et fait allusion du fait que ses feuilles ressemblent à celles du houx (*Ilex aquifolium*). (SH & Romane, 1990)

*Quercus ilex* joue un rôle important dans la régulation du cycle de l'eau dans les écosystèmes méditerranéens. Les feuilles de l'arbre interceptent l'eau de pluie et la retiennent, réduisant ainsi l'érosion des sols. De plus, la transpiration des feuilles contribue à la formation de nuages et à la régulation du climat. (Gauquelin, 2016). Le chêne vert (*Quercus ilex*) est une espèce résistante et adaptable, capable de survivre à des conditions climatiques variées. Il peut supporter des températures allant de -15°C à 42°C et s'adapter à des précipitations variant de 250 mm à 1462 mm. Sa capacité à prospérer dans différents étages bioclimatiques lui permet de former des peuplements forestiers étendus dans diverses régions, notamment en Algérie (Haichour, 2019)

*Quercus ilex* comme toute espèce végétale, évolue dans un écosystème dynamique, où toutes sortes d'interactions entre espèces et populations à différents niveaux trophiques se produisent : symbiose, parasitisme, compétition. Chaque type de sol présente des potentiels énergétiques différents, ce qui se traduit par des modifications de la flore et de la faune (Arpin & al., 2011). Dans cette étude, nous nous sommes concentrés sur la microflore associée au chêne vert (*Quercus ilex*), dans l'un de ces milieux divers.

Depuis l'expansion des plantes et des arbres dans les écosystèmes terrestres, les plantes ont développé diverses stratégies d'adaptation. Parmi celles-ci, les systèmes racinaires ont établi des relations mutuellement bénéfiques avec des microorganismes présents dans le sol, connus sous le nom de mycorhizes. Ces associations sont apparues sur Terre il y a environ 400 millions d'années (Simon & al., 1993). Les champignons impliqués dans ces interactions sont des Basidiomycètes, des Ascomycètes ou des Zygomycètes. En 1885, Albert FRANK, un botaniste allemand, fut le premier à décrire cette symbiose. Le terme "mycorhizes" provient du grec "mukés", qui signifie champignon, et "rhiza", qui signifie racine. D'une part, la mycorhize répond aux besoins du champignon en lui fournissant des composés carbonés synthétisés par la plante hôte lors de la photosynthèse. D'autre part, elle permet à la plante hôte de bénéficier d'une meilleure nutrition minérale grâce au réseau d'hyphes situé à l'extérieur de ses racines, formant ainsi la phase extra-matricielle qui s'étend bien au-delà de la zone explorée par les racines dans le sol. (Zeggane, 2022)

Dans ce contexte, notre étude est de caractériser les populations bactériennes abritées par la rhizosphère et la mycorhizosphère du chêne vert. En effet, de nombreux auteurs ont rapportés à travers de multiples études, l'importance cruciale de la microflore du sol dans l'installation et le maintien des mycorhizes à l'instar de Garbaye (1990) et Duponnois (1992).

L'effet de ces rhizobactéries appelées bactéries auxiliaires de la mycorhization est généralement attribué à leur excellent pouvoir colonisateur de la rhizosphère et leur effet antagoniste contre différents agents pathogènes (**Paulitz & Linderman, 1990**).

Lors du choix de notre zone d'étude, nous avons porté notre attention sur la région de Tizi-Ouzou en Kabylie, en raison de son importance écologique et de sa richesse en biodiversité. La Kabylie est réputée pour abriter de vastes étendues forestières, dont le chêne vert (*Quercus ilex*) fait partie intégrante. Cette espèce végétale endémique de la région est connue pour sa résistance et son adaptation à des conditions climatiques variées.

La région de Tizi-Ouzou présente également des caractéristiques géographiques et climatiques propices à notre étude. Son climat méditerranéen, avec des hivers doux et des étés chauds et secs, crée un environnement favorable à la croissance du chêne vert et à l'établissement de sa microflore associée. De plus, la diversité des sols et des conditions géologiques dans la région offre un contexte idéal pour étudier l'interaction entre les bactéries et le chêne vert.

En choisissant cette région, nous avons donc pu concentrer notre étude sur une zone spécifique où le chêne vert prospère et explorer la diversité de la flore bactérienne associée à cette espèce emblématique.

Notre projet de fin d'étude comporte quatre parties. La première porte sur l'étude bibliographique, la deuxième est consacré au matériel et méthodes, la troisième aux résultats obtenus et à leur discussion. L'ensemble est clos par une conclusion et perspectives d'étude.

# **Partie I : Synthèse Bibliographique**

## I.1. Description botanique

### I.1.1. Feuillage

Le chêne vert (*Quercus ilex*) présente un feuillage persistant, d'une couleur verte foncée lustrée sur la face supérieure et grise argentée pubescente sur la face inférieure. La forme des feuilles varie en fonction de l'environnement, avec des feuilles dentées dans les zones arides et ovales dans les zones plus humides. Elles peuvent être poilues sur les deux faces, devenant glabres avec le temps. Les feuilles ont une durée de vie de deux à trois ans et leur répartition sur les branches est aléatoire en fonction de l'âge de l'arbre (Merabet & Arab, 2019). (fig.1)



Figure 1 : Port d'un individu de *Quercus ilex* (Anonyme)

### ▪ I.1.2.Fleurs

Le Chêne vert est une espèce monoïque (aux fleurs unisexes). C'est-à-dire que ses fleurs mâles et femelles sont séparées. Sa floraison se déroule à la fin du printemps (avril à mai). On peut d'ailleurs facilement voir ses fleurs mâles représentées par des chatons jaunes pendants. Les fleurs femelles quant à elles sont beaucoup plus discrètes, elles sont des petites fleurs verdâtres insignifiantes qui fructifient en glands. (Merabet & al, 2019) Les fleurs mâles sont représentées dans la figure 2.



Figure 2 : Chatons verts de *Quercus ilex* (Anonyme)

### I.1.3. Fruits

Les fruits du *Quercus ilex* sont des glands et sont représentés dans la **figure 3**. Ce sont les fleurs femelles qui les produisent. Lorsqu'ils atteignent leur maturité, les glands deviennent de couleur marron. Ils se caractérisent par une cupule écailleuse relativement grande par rapport à la taille du gland lui-même. Cependant, les glands sont de petite taille, généralement ne dépassant pas trois centimètres. Ils sont riches en tanin, ce qui les rend très amers, à l'exception de la variété ibérique appelée Chêne vert à gland doux (*Quercus ilex subsp. ballota*), qui est cultivée pour la consommation de ses fruits ayant un goût de châtaigne.



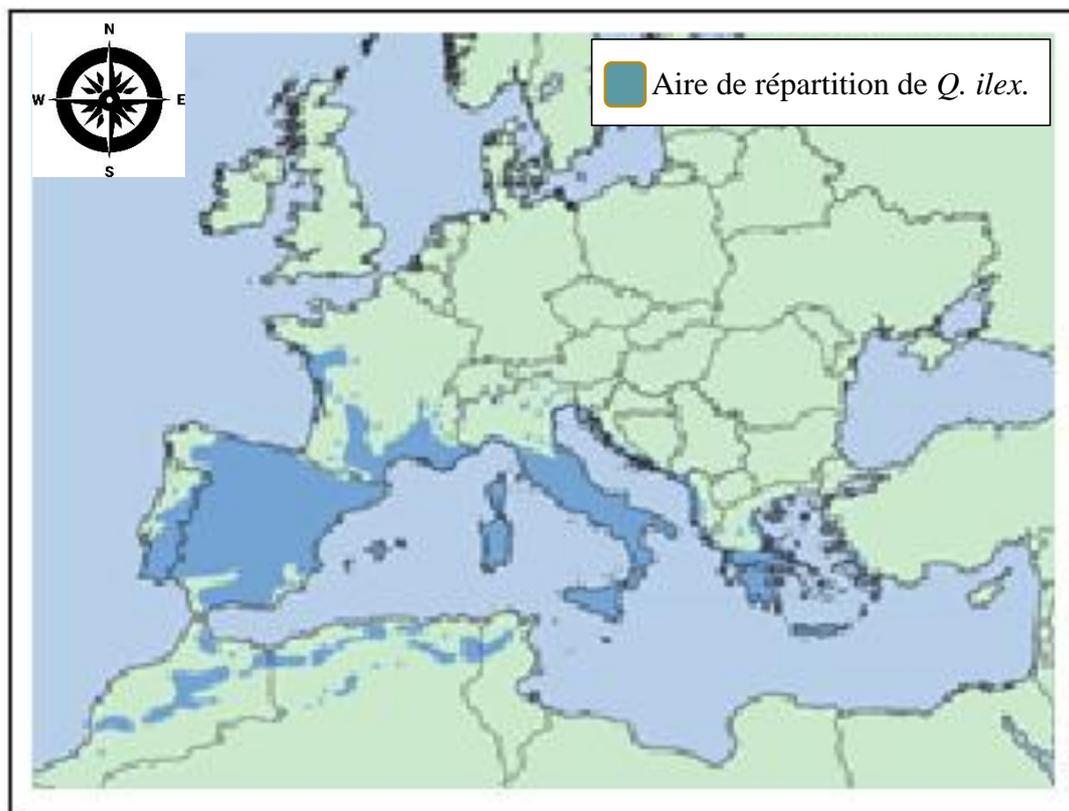
**Figure 3 :** Glands de *Quercus ilex* (Anonyme)

Ces fruits (glands) sont subsessiles sur les ramuscules de l'année, la fructification annuelle (Novembre-Décembre) ne commence que lorsque l'individu atteint douze ans environ, devient appréciable vers vingt-cinq et trente ans et abondante entre cinquante et cent ans. Les glands sont de forme très variable : ovoïdes, subsylindriques, globuleux ; leurs longueurs varient de 1,5 à 3 cm et leur diamètre de 1 à 1,5 cm. La plupart des glands sont amers et ne sont pas comestibles pour l'homme, mais ils sont tous très appréciés des animaux. (Haichour, 2019)

## I.2. Répartition géographique de l'espèce

### I.2.1. Répartition géographique dans le monde

L'aire de répartition du chêne vert s'étend sur une grande partie du bassin méditerranéen est caractérisée dans la carte de la **figure 4**. Avec ses 3020000 ha *Quercus ilex*, constitue une des essences forestières la plus représentative dans cette région. La plus grande extension se localise dans la partie occidentale ce qui le qualifie d'espèce circumméditerranéenne. Il est très répandu en Tunisie et au Maroc surtout dans la moyenne montagne, dans les Rifs et dans le moyen Atlas où il couvre les pentes jusqu'à 800 mètres d'altitude. (Belabbas, 2010)



**Figure 4 :** Carte représentante de la Répartition du chêne vert dans le bassin méditerranéen (Caudullo, 2017)

### I.2.2. Répartition en Algérie

Le chêne vert occupe une place importante au sein de la forêt algérienne comme il est illustré dans la **figure 5**. Les données des superficies forestières de l'année 1997 classent le chêne vert au troisième rang après le pin d'Alep (800000ha) et le chêne liège (463000 ha). L'essence se localise dans les régions côtières, les massifs montagneux, littoraux et l'Atlas tellien inclus dans le domaine Magrébin- méditerranéen. Elle est abondante sur le littoral à des altitudes allant de 900 à 2000 mètres et en bordures des hauts plateaux : Aurès, Kabylie, Tlemcen et atteint souvent la limite de la végétation. Le chêne vert est surtout présent dans le nord-ouest du pays. La surface aurait fortement régressé en une dizaine d'années, de 680000 ha en 1985 à 354000 ha en 1997. Selon les données établies par la direction générale des forêts de l'année 2009, le chêne vert occupe 3343,95 ha dans le Parc National de Djurdjura, dont 30% sont en association avec le cèdre de l'atlas et 13% par le chêne vert pur. Les garrigues représentent plus de 50% de la superficie totale estimée. Au Parc national de Chréa le chêne vert couvre 10400 ha dans la tranche altitudinale allant de 800 à 1500 mètres. (Belabbas, 2010).

La distribution du chêne vert à Tizi Ouzou est indiquée dans le tableau 1.

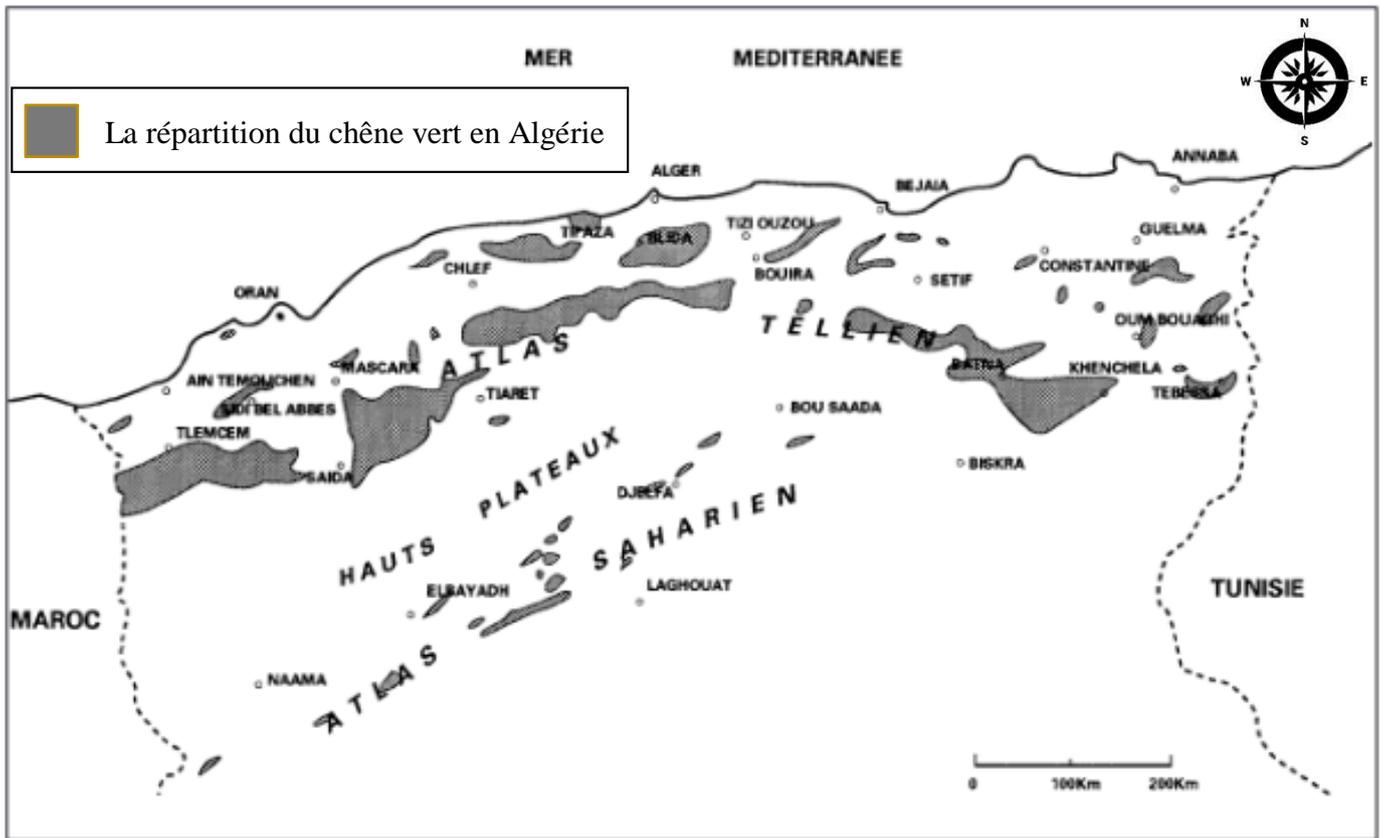


Figure 5 : Carte représentante de la Répartition du chêne vert en Algérie (Dahmani-Megrerouche, 2022)

**Tableau 1 : Répartition des communes avec les superficies dominées par l'espèce végétale « *Quercus ilex* » ou « Chêne vert » (Protection des forêts, 2023)**

Communes	Superficie en Ha				Essences principales
	Domaine public	Reboisement	Domaine privé	Total	
Illoula Oumalou	77,68	100	1 790,33	1 968,00	chêne vert, cèdre
Beni Zeki			830	830	chêne vert
Ait Mahmoud	753		650	1 403,00	Chêne liège, chêne vert
Beni Aissi	522		268	790	Chêne liège, chêne vert
Beni Zmenzer	538,5		700	1 238,50	Oléastre, chêne vert
Agouni Gueghrane	678,5		1 000,00	1 678,50	chêne vert, Oléastre
Ait Bouaddou	197		634	831	chêne vert, Oléastre
Maatkas	330,51		291,25	621,76	Chêne liège, chêne vert
Iboudraren			1 613,00	1 613,00	chêne vert, cèdre
Iferhounene			1 335,00	1 335,00	chêne vert
Imsouhal			1 011,00	1 011,00	chêne vert
Illilten			1 600,00	1 600,00	chêne vert
Ait Oumalou			552	552	chêne vert, Oléastre
Ait Boumahdi			910	910	chêne vert, Oléastre
Ait Touddert			1 600,00	1 600,00	chêne vert, Oléastre
Ain el Hammam			1 462,00	1 462,00	chêne vert
Ait Yahia			2 350,00	2 350,00	chêne vert, Oléastre
Akbil			1 538,00	1 538,00	chêne vert
Abi Youcef			734	734	chêne vert
Bounouh	1 309,00		500	1 809,00	Chêne liège, chêne vert
Larbaa Nath Irathene			1 182,00	1 182,00	Chêne liège, chêne vert
Ait Agouacha	211,5		1 000,00	1 211,50	Chêne liège, chêne vert

### I.3. Classification du chêne vert

Le chêne vert est classé d'après **Cronquist (1981)** comme suit :

**Règne :** *Plantae*

**Sous-règne :** *Tracheobionta*

**Division :** *Magnoliophyta*

**Classe :** *Magnoliopsida*

**Sous-classe :** *Hamamelidae*

**Ordre :** *Fagales*

**Famille :** *Fagaceae*

**Genre :** *Quercus*

**Espèce :** *Quercus ilex* L.

### I.4. Ecologie

Le chêne vert est un arbre adapté aux régions méditerranéennes, capable de résister à la sécheresse estivale et présent dans des climats variés. Il pousse dans des zones ensoleillées et chaudes, ainsi que dans des régions tempérées et fraîches, des zones semi-arides et des régions plus humides avec des précipitations allant jusqu'à 1200 mm. Il est également adaptable à différentes altitudes, se trouvant principalement dans les régions côtières du nord de la Méditerranée et s'étendant jusqu'à 1000 mètres dans le sud. Le chêne vert est également capable de s'adapter à différents types de sols, y compris les sols calcaires arides et les sols siliceux. **(Belabbas, 2010)**

*Quercus ilex*, également connu sous le nom de Chêne vert, est une espèce thermophile qui préfère les climats chauds. Cependant, il montre également une bonne tolérance au froid, pouvant pousser jusqu'à une altitude de 1500 mètres dans les régions méditerranéennes. Il est bien adapté aux conditions de sécheresse en raison de sa nature xérophile et peut prospérer dans des environnements où l'eau est limitée. En tant qu'arbre héliophile, il préfère les endroits ensoleillés qui lui permettent de bénéficier pleinement de la lumière du soleil. **(Bousemma, 2022)**

### I.5. Microflore du sol

Le sol, en tant que milieu complexe, abrite les racines des plantes, les animaux et les microorganismes. Il se compose de substances minérales et organiques, de gaz et d'eau, où des

processus de dégradation et de synthèse se produisent simultanément. Ces processus sont influencés par des facteurs physico-chimiques tels que la structure, la texture, la matière organique, la concentration ionique, la lumière, la température, l'humidité et l'aération, ainsi que par des facteurs biotiques liés aux caractéristiques des individus et aux interactions trophiques entre les espèces animales, fongiques et procaryotiques. Sur le plan biologique, la nutrition joue un rôle essentiel dans les transformations biologiques du sol, où la litière est décomposée par les enzymes microbiennes et la microfaune, produisant des résidus qui nourrissent d'autres organismes. Ces processus de catabolisme et d'anabolisme minéralisent la matière organique, favorisant ainsi la croissance des plantes essentielles à la vie sur terre. La décomposition du sol implique une diversité d'organismes, tels que les bactéries, les champignons et les animaux, y compris les oligochètes, les isopodes et les collemboles, qui interagissent dans un écosystème énergétique où des relations symbiotiques, parasitaires et compétitives se produisent à tous les niveaux trophique (Arpin & al., 2011).

### I.6. Capacité à fixer l'azote atmosphérique

*Quercus ilex* est capable de former des associations symbiotiques avec des bactéries fixatrices d'azote atmosphérique, telles que *Frankia* et *Rhizobium*. Cette capacité de fixer l'azote atmosphérique peut contribuer à la fertilité des sols pauvres en nutriments où l'arbre pousse.

Ce processus de fixation de l'azote atmosphérique permet à l'arbre de convertir l'azote gazeux en une forme utilisable par les plantes. Cette association symbiotique entre le chêne vert et les bactéries fixatrices d'azote joue un rôle crucial dans le cycle des éléments nutritifs et dans la résilience de l'arbre dans des environnements souvent caractérisés par des conditions difficiles. (Dreyfus, 1992)

## **Partie II : Matériel et méthodes**

## II.1. Description de la zone d'étude

La forêt de Tala Guilef est située sur le versant nord du Massif du Djurdjura dans l'Atlas tellien elle s'étend sur une superficie de 786 ha et présente une altitude moyenne de 1800 m. Cette forêt est caractérisée par un étage bioclimatique humide à variante humide (**Bouzar & Boukellal, 1990**).

La pluviométrie avoisinant les 1500 mm avec des pluies abondantes en hiver et en automne, moindre printemps est faible en été (**Bouzar & Boukellal, 1990**). Actuellement le changement climatique à impacter fortement cette région avec une pluviométrie de 700 mm avec des pluies de plus en plus rare d'année en année. Selon **Belaïd (1986) et Allalou (1986)**, le sol de Tala Guilef serait un sol brun ocreux de texture limono argileuse en surface et limoneux en profondeur avec un humus de type Moder et de type mor, le pH est faiblement acide.

Les précipitations sont un facteur climatique crucial, et en Algérie, elles sont principalement mesurées sous forme de pluie. Le régime de précipitations à Tala Guilef suit un schéma saisonnier (HPAE) avec les saisons hiver, printemps, automne et été (**Derridj, 1990**).

Les précipitations les plus élevées sont enregistrées en décembre (290,4 mm), tandis que les plus faibles sont observées en juillet (14,99 mm). Les précipitations annuelles s'élèvent à 1655,75 mm. (**Mohamdi, 2018**).

La température maximale est enregistrée en juin (22,8°C), tandis que la température minimale est enregistrée en décembre (0,225°C). La température annuelle moyenne est de 12°C. La saison des pluies s'étend sur environ 9 mois (Septembre à Mai), tandis que la saison sèche est relativement courte, d'environ 3 mois (Juin à Août). (**Mohamdi, 2018**).

## II.2. Collecte du matériel

Au niveau de la pinède de Tala Guilef, le chêne vert constitue une association avec le pin d'Alep, nous avons prélevé et collecté quelques lots de Racines pendant la période de février et choisies dans des points différents du système racinaire de 10 sujets jeunes à 20 cm de profondeur en s'assurant que les racines ainsi prélevés appartiennent bien au sujet d'étude (*Q. ilex*). Le long des racines ainsi collectées existent de petits agrégats stipulant l'existence de mycorhizes ectotrophes.

Un prélèvement de sol contenant la racine de *Q. ilex* a été effectué dans la forêt de Tala Guilef.



Figure 6 : Prélèvement du sol (Origine, 2023)



Figure 7 : Forêt de Tala Guilef (Anonyme)

## II.3. Technique d'étude

### II.3.1. Etude quantitative des bactéries associées à *Quercus ilex*

#### II.3.1.1. Préparation de l'échantillon

Préparer l'échantillon de racines en le rinçant doucement pour éliminer les particules de sol adhérentes puis sélectionner les racines mycorhizées et non mycorhizées sous loupe binoculaire grossissement 10x2.

#### II.3.1.2. Isolement des bactéries à partir des mycorhizes blanches et des racines non mycorhizées de *Quercus ilex*

Les mycorhizes ont été séparées du système racinaire préalablement lavées à l'eau courante. La surface des mycorhizes a été stérilisée en l'immergeant dans une solution de l'eau de javel ( $\text{NaClO}$ ) à 1,5 % pendant une minute sous agitation. Les mycorhizes ont été ensuite soigneusement rincées afin d'éliminer toutes les traces de  $\text{NaClO}$ . L'isolement des bactéries situées dans les racines mycorhizées a été réalisé de la même façon que celui effectué dans le cas des racines non mycorhizées.

La technique d'étude utilisée est celle des suspensions dilution préconisée par (**Pochon, 1962**). Les dilutions obtenues sontensemencées dans des boîtes de Petri contenant des milieux de culture sélectifs. Les échantillons de sol et de racines sont pesés (5 g de racine ou 5 g de sol) et transférés dans des fioles contenant chacune 50 ml de solution de Ringer stérile, elles représentent les solutions mères. Ces dernières ont été placées sur des agitateurs rotatifs pendant 30 minutes à 37 tours par minute afin de libérer tous les micro-organismes fortement adhérent. Une aliquote de 1 ml a été prélevé de chacune de ces fioles est mise dans des tubes à essai contenant 9 ml de solution de Ringer stérile. A partir de ces dernières ont été préparées une série de dilutions allant de  $10^{-1}$  à  $10^{-7}$ .

Une aliquote de 0,2 ml de chaque dilution est étalé sur les milieux sélectifs préalablement préparés (Milieu bactéries totales, bactéries gram négatif, King B) (**Annexe1**) Trois répétitions sont considérées pour chaque dilution et pour chaque milieu sélectif et c'est la moyenne de ces trois répétitions qui est prise en compte pour le calcul du nombre de colonies par boîte et ainsi par gramme de poids secs point seul les dilutions fournissant les chiffres moyens entre 20 et 80 colonies pour la population sont prises en considération pour le calcul du nombre de germes par gramme de poids secs.

#### II.3.1.3. Méthode de calcul du nombre de germes

Pour le calcul du nombre de germes par gramme de poids sec, nous avons utilisés la méthode suivante :

$\text{Nombre de germes par g de racines} = \text{moyenne du nombre de colonies} \times \text{dilution} \times Q$
---

$$N = n \times 0,2 \times Q$$

$$P = Q \times 0,2$$

$$P = R_m / 0.2 \text{ (} R_m = \text{racines mycorhizées)}$$

$$P = \text{poids de la racine} / \text{solution d'ensemencement (ml)}$$

$P = 1 / 0,2$

$Q = 50/p = 50/(1/0,2)$

n : Nombre moyen de colonies

P : Poids sec (de racines ou de sol)

0,2 : Volume d'inoculum déposé dans chaque boîte

#### **II.3.1.4. Caractérisation et identification de certains isolats bactériens**

Après isolement des colonies bactériennes, seuls quatre colonies ayant des aspects plus ou moins différents sont retenues. Les caractéristiques morphologiques (forme générale, gramme, production d'endospore) sont mises en évidence avec des suspensions bactériennes de 24 heures en procédant à l'application de la coloration différentielle de gramme et en utilisant un microscope optique.

Les caractéristiques physiologiques sont déterminées en utilisant la mini galerie classique de détermination bactérienne.

#### **II.3.1.5. Caractérisation biochimique par la mini galerie biochimique classique**

Des suspensions bactériennes ont été préparées en récupérant une colonie de chaque boîte de Petri et en l'immergeant dans 9ml d'eau physiologique stérile.

La galerie classique adoptée était en fonction des moyens mis à notre disposition. Il s'agit globalement : Des tests : Catalase, urée/indole, Nitrate réductase, mannitol mobilité, utilisation du citrate comme seule source de carbone, production de sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S), de gaz, dégradation de trois sucres (glucose, saccharose, lactose) et détermination de la voie de fermentation du glucose.

#### **II.3.1.6. Caractérisation microscopique**

La coloration différentielle de Gram permet de classer les bactéries en deux grands groupes : les bactéries à Gram positif qui retiennent le colorant violet et apparaissent violettes sous microscope et les bactéries à Gram négatif qui sont décolorées par un agent de décoloration et prennent la coloration rouge/rosée lors de l'application d'un contre-colorant.

Préparation de l'échantillon : Quelques colonies sont prélevées de chaque échantillon à l'aide d'une pipette pasteur stérile et déposées séparément sur des lamelles propres.

Fixation de l'échantillon : Les lamelles contenant les échantillons sont placées au-dessus de la flamme du bec Bunsen pour fixer les bactéries sur la lamelle.

Coloration : Le violet de gentiane est appliqué sur chaque lamelle, en veillant à recouvrir complètement les échantillons (1min).

Rinçage : Chaque lamelle est rincée délicatement à l'eau distillée pour éliminer l'excès de colorant.

Application du Lugol : Quelques gouttes de Lugol sont appliquées sur chaque lamelle, en veillant à bien recouvrir les échantillons (1min).

Décoloration : Les lamelles sont rincées à l'éthanol jusqu'à ce que l'excès de colorant soit éliminé (30s).

Contre-coloration : Quelques gouttes de Fushine sont appliquées sur chaque lamelle (1min).

Rinçage : Les lamelles sont rincées une dernière fois à l'eau distillée.

Une fois les lamelles séchées, elles peuvent être observées au microscope photonique. Les bactéries à Gram positif apparaîtront violettes, tandis que les bactéries à Gram négatif apparaîtront rosées.

## **Partie III : Résultats et Discussion**

### III.1. Résultats

#### III.1.1. Etude quantitative

La mycorhize utilisée appartient au groupe A, elle possède un mycélium extra matriciel abondant de couleur blanche (fig.8).



Figure 8 : Mycorhize blanche à longs cordons vue à la loupe binoculaire. (Originelle, 2023)

L'étude quantitative des colonies bactériennes a permis d'évaluer la densité et l'abondance des microorganismes présents (fig.9).

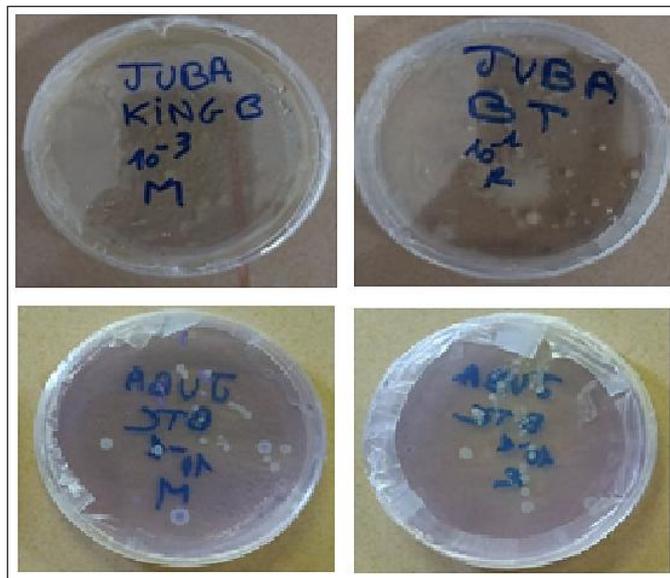


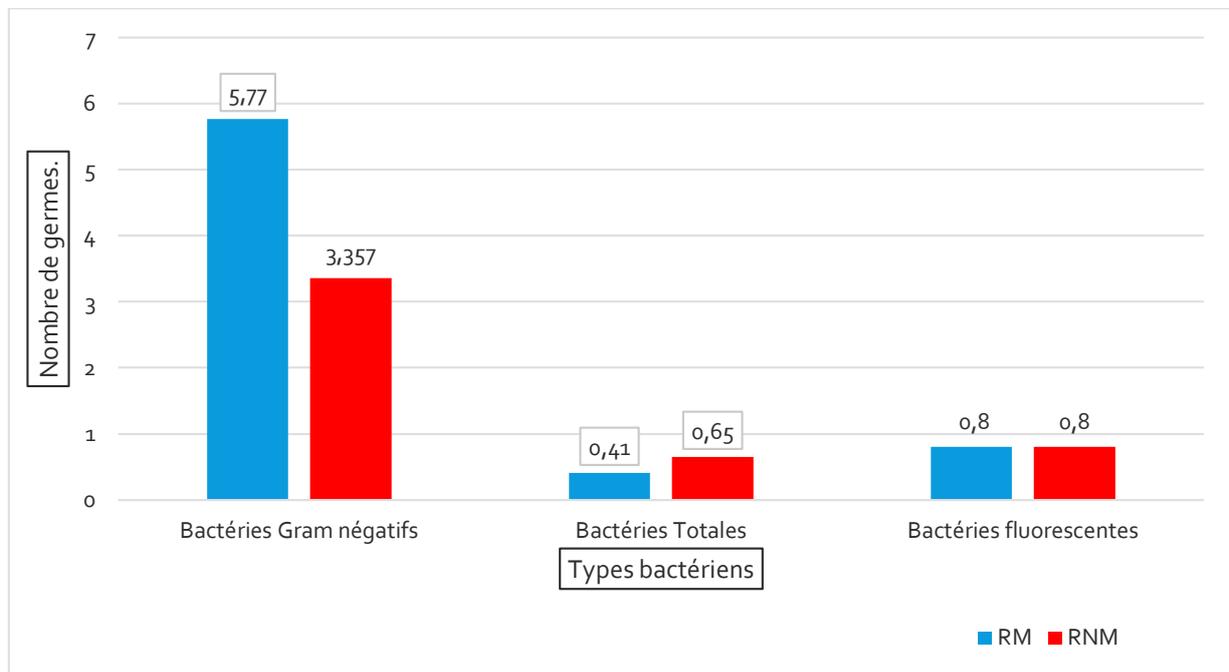
Figure 9 : Croissance bactérienne sur milieu King B, bactéries totales et gram négatif (Originelle, 2023)

Les résultats de l'étude quantitative de la rhizosphère et de la mycorrhizosphère de *Quercus ilex* sont consignés dans le **Tableau 2** et matérialisés par l'histogramme de la **Figure 10**.

**Tableau 2 : Quantification du nombre de bactéries présentes dans l'échantillon de racines mycorhizées et non mycorhizées en unité de  $10^6$  germes / g de racines.**

Bactéries Echantillons	Bactéries Gram négatif	Bactéries totales	Bactéries fluorescentes
RM	5,77. $10^6$ germes/ g de racines	0,41. $10^6$ germes/ g de racines	0,8. $10^6$ germes/ g de racines
RNM	3,357. $10^6$ germes/ g de racines	0,65. $10^6$ germes/ g de racines	0,8. $10^6$ germes/ g de racines

RM : Racines mycorhizées / RNM : Racines non mycorhizées



**Figure 10 : Densité bactérienne au niveau des racines mycorhizées et des racines non mycorhizées.**

Les résultats des réactions des tests enzymatiques et biochimiques des cultures de chaque milieu de culture sont présentés ci-dessous :

**A noter :** La majorité des tests biochimiques qui suivront auront un ensemble de tubes à essais qui seront caractérisés comme suit :

**Tube A :** Tube contenant la couleur d'origine du milieu

**Tube B,C,D :** Tube contennent les milieuxensemencés

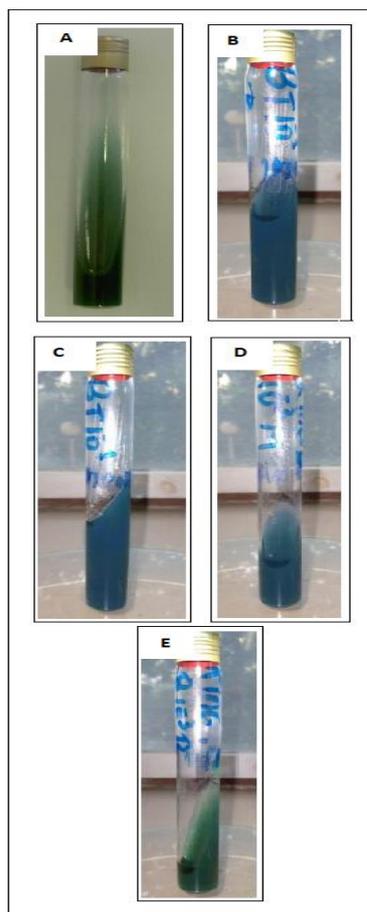
**Tube E** : Tube nonensemencé qui est le tube témoin

### III.1.2. Caractérisation et identification des quatre isolats bactériens

Les résultats des réactions des tests enzymatiques et biochimiques des colonies bactériennes sélectionnées sont présentés ci-dessous.

#### III.1.2.1. Test biochimique de Citrate de Simmons

Parmi les quatre genres bactériens isolés, trois (**B, C, D**) utilisent le citrate comme seule source de carbone avec alcalinisation du milieu expliquant le virage de l'indicateur de pH coloré au bleu. Ces types bactériens possèdent une Citrate perméase. Aucun virement de couleur n'a été relevé dans le tube **E** comparé au tube témoin (**A**) nonensemencé ce qui traduit l'absence de l'enzyme citrate perméase (**fig.11**).



**Figure 11 : Recherche de la Citrate perméase (Originelle, 2023)**

### III.1.2.2. Test Urée indole

Le test Urée indole se décline en trois étapes. Les résultats de ce dernier, effectué sur les quatre isolats bactériens, révèle la présence de l'enzyme Uréase. Cette dernière est responsable de la dégradation de l'Urée en ammoniac, entraînant une augmentation du pH du milieu ce qui provoque un virage de couleur vers le rose vif (**fig.12**).

On note la formation d'un anneau rouge en surface en **C** après ajout du réactif de Kovacs (le tryptophane a donc été hydrolysé), contrairement au tube **A**, **B** et **D** (**fig.13**).

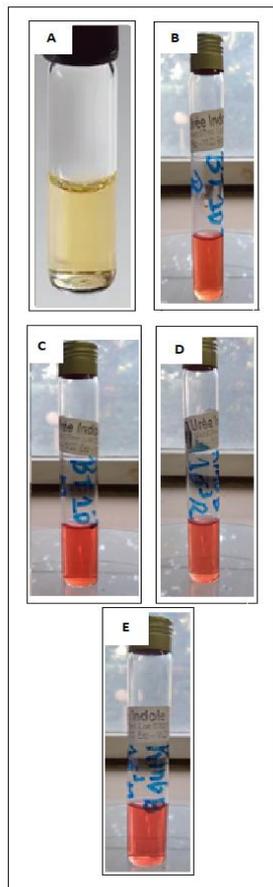


Figure 12 : Recherche de l'Uréase (Originelle, 2023)

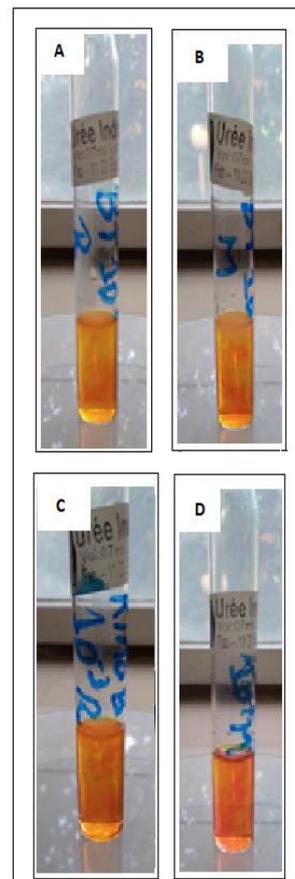
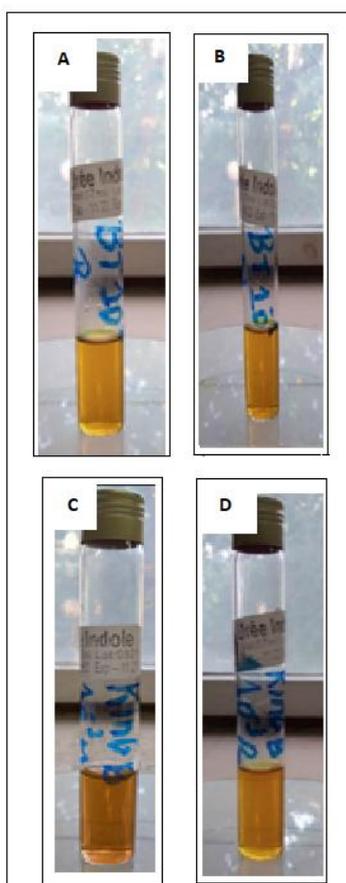


Figure 13 : Détermination de la production d'Indole (Originelle, 2023)

### III.1.2.3. Recherche de l'enzyme Tryptophane désaminase

La présence de la tryptophane désaminase (TDA) a été révélée en **C** après addition du chlorure de fer III par la formation d'un précipité brun caractéristique de la désamination du tryptophane en acide indole pyruvique et en  $\text{NH}_3$  (**fig.14**).



**Figure 14 : Recherche de la Tryptophane désaminase**

#### III.1.2.4. Test Triple sugar iron (TSI)

Les résultats du test Triple Sugar Iron effectués sur les quatre isolats bactériens montrés que trois d'entre elles (**B, C, D**) fermentent le glucose, lactose et le saccharose traduisant la couleur du culot et de la pente vers le virage vers le jaune (production d'acides) comparativement au tube témoin **A** non ensemencé et en **E** (**fig.15**).

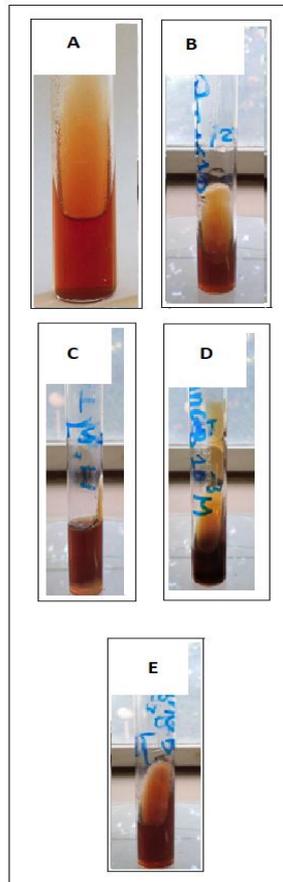
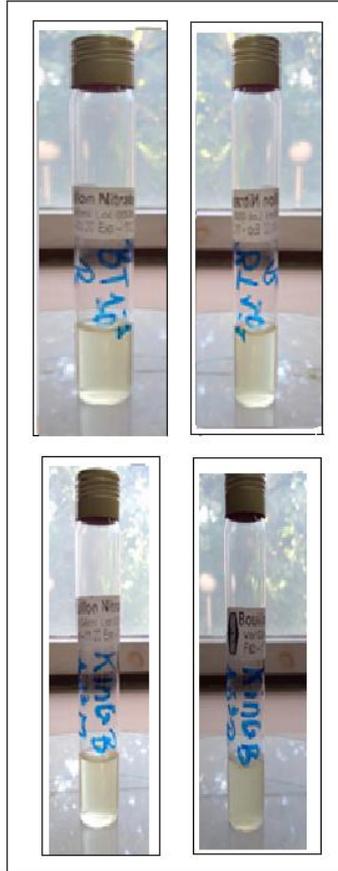


Figure 15 : Test Triple Sugar Iron (Originelle, 2023)

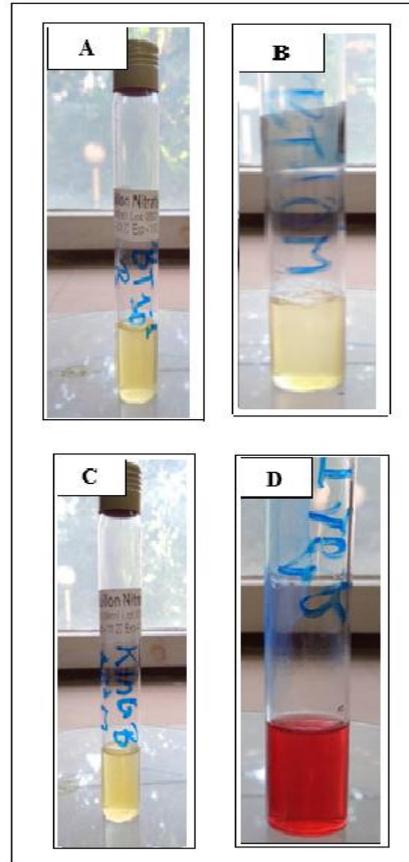
### III.1.2.5. Recherche de l'enzyme Nitrate réductase

Après 24h d'incubation, la croissance bactérienne s'est traduite par l'apparition d'un trouble dans les quatre tubesensemencés (**fig.16**).



**Figure 16** : Croissance bactérienne dans le bouillon nitraté. (Originelle, 2023)

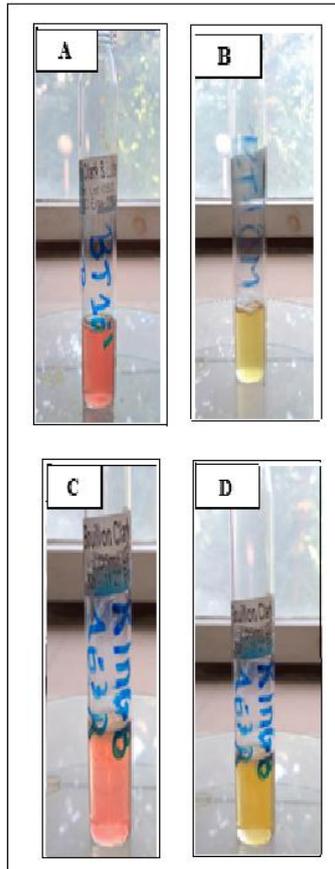
La présence de la Nitrate réductase a été révélée en **D** par un virage de couleur du milieu vers le rouge après addition des réactifs de Griess (Nitrite I et Nitrite II), affirmant la présence de nitrites ( $\text{NO}^2^-$ ) issus de la réduction des nitrates ( $\text{NO}^3^-$ ). (**fig.17**).



**Figure 17** : Recherche de la Nitrate réductase (Originelle, 2023)

### III.1.2.6. Test Voges Proskauer (Clark & Lubs)

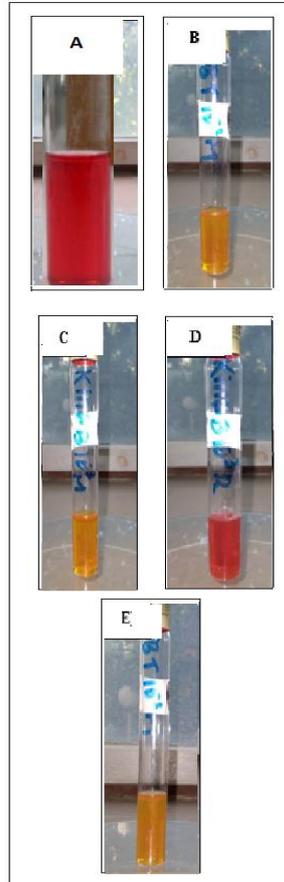
En **A** et **C**, notez la production d'Acétoïne, de Butane-diol et de Di-Acetyl, le traduisant par un virage de couleur vers le rosé en milieu oxique, et ce, après addition d'alpha naphthol (VP1) de KOH (VP2) (**fig.18**).



**Figure 18** : Mise en évidence de la voie de fermentation butane-diol (**Originelle, 2023**)

### III.1.2.7. Test Mannitol Mobilité

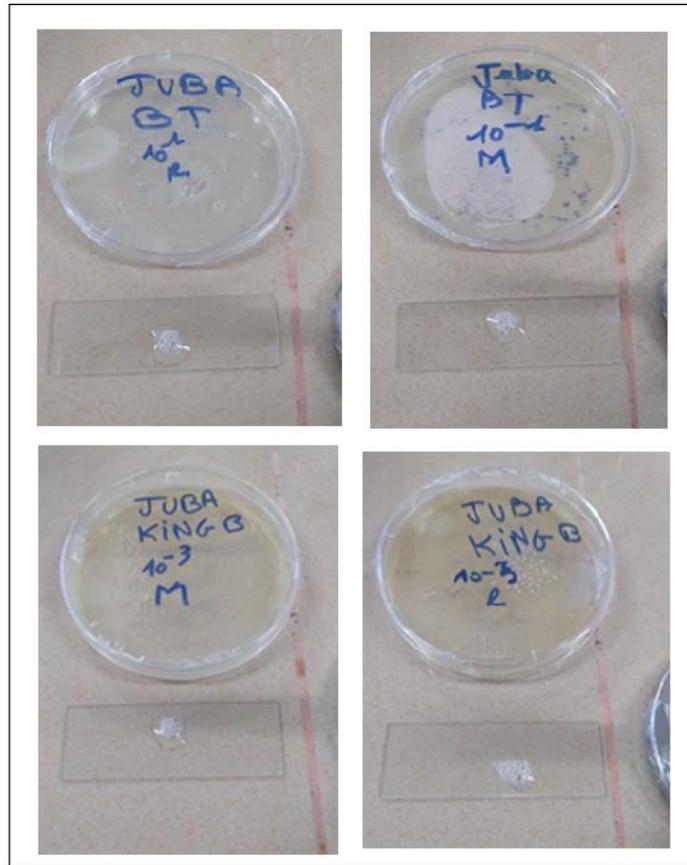
En **B**, **C**, **E** notez un virage de couleur du milieu vers l'orangée indiquant la fermentation du mannitol contrairement au tube témoin (**A**) et au tube **D** dont la couleur reste invariable, comme il est illustré dans la **figure 19**.



**Figure 19** : Test de mobilité et fermentation du mannitol (Originelle, 2023)

### III.1.2.8. Test Catalase

La recherche de la Catalase s'est révélée positive pour les quatre isolats bactériens identifiés et associées à *Q. ilex*. Ceci a été démontré par le dégagement de CO<sub>2</sub> par effervescence après addition de quelques gouttes d'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (fig.20).



**Figure 20** : Recherche de la Catalase. (Originelle, 2023)

Les résultats des tests biochimiques entrepris par la mini-galerie classique sont résumés dans le **Tableau 3**.

**Tableau 3** : Caractéristiques biochimiques des quatre isolats bactériens.

<b>Souches</b> <b>Tests</b>	<b>S1</b>	<b>S2</b>	<b>S3</b>	<b>S4</b>
Catalase	+	+	+	+
Urée	+	+	+	+
Indole	-	-	-	+
Mannitol	+	+	-	+
Mobilité	+	-	+	+
Citrate	+	+	-	+
H <sub>2</sub> S	-	-	-	+
Gaz	-	-	-	+
Nitrate réductase	-	-	+	-
Glucose	+	+	-	+
Lactose	+	+	-	+
Saccharose	+	+	-	+
VP (Acétoïne)	+	-	-	-
TDA	-	-	+	-

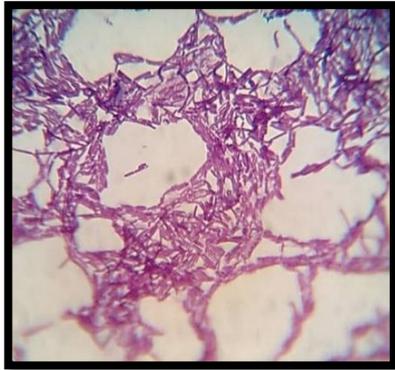
### III.1.3. Observation microscopique

Parmi les bactéries isolées, nous nous sommes intéressés à quatre isolats bactériens dont le nombre de colonies est le plus important (**I<sub>1</sub>**, **I<sub>2</sub>**, **I<sub>3</sub>**, **I<sub>4</sub>**). L'approche d'identification nous a permis de déterminer quatre genres bactériens dont les caractéristiques sont regroupées dans le **tableau 4** et illustré par les **figures (21, 22, 23, 24)**.

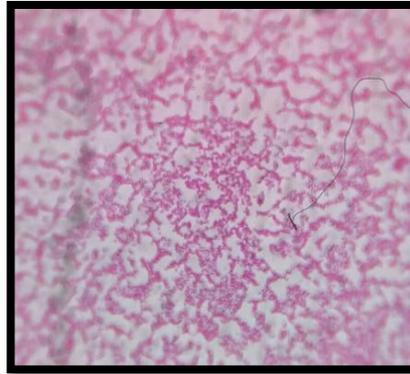
**Tableau 4 : Origine et caractéristiques morphologiques et biochimiques des isolats bactériens.**

<b>Isolats bactériens</b>	<b>Forme</b>	<b>Provenance</b>	<b>Réaction Gram</b>	<b>Endospore</b>
<b>I<sub>1</sub></b>	Coccobacille	Racines non mycorhizées	-	-
<b>I<sub>2</sub></b>	Grands bâtonnets	Racines mycorhizées	+	+
<b>I<sub>3</sub></b>	Sphériques	Racines non mycorhizées	+	-
<b>I<sub>4</sub></b>	Petits bâtonnets	Racines mycorhizées	-	-

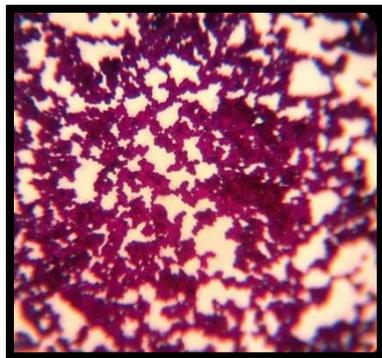
La caractérisation morphologique en complément à l'analyse biochimique a permis l'identification de quatre genres bactériens. Il s'agit de *Bacillus* et *Pseudomonas* dans la Mycorrhizosphère, *Micrococcus* et *Citrobacter* dans la rhizosphère. (Fig 21, 22, 23, 24)



**Figure 21 : *Bacillus* sp. (G : 40x10)**  
(Originelle, 2023)



**Figure 22 : *Citrobacter* sp. (G : 40x10)**  
(Originelle, 2023)



**Figure 23 : *Micrococcus* sp. (G : 40x10)**  
(Originelle, 2023)



**Figure 24 : *Pseudomonas* sp. (G : 40x10)**  
(Originelle, 2023)

### III.2. Discussion

L'analyse des résultats obtenus révèle l'abondance de la flore bactérienne au niveau des deux échantillons considérés. Elle représente les respectivement  $5,77.10^6$  germes/ g de racines de bactéries gram négatif dans les racines mycorhizées et  $3,357.10^6$  germes/ g de racines ce qui démontre donc une prédominance de bactéries à gram négatif dans les racines mycorhizées. Les bactéries totales se sont montrées plus nombreuses dans les racines mycorhizées avec un total de  $6,41. 10^6$  germes / g de racines et seulement  $0,65.10^6$  germes/ g de racines sec dans les racines non mycorhizées. Quant aux bactéries fluorescentes dénombrées sur le milieu King B, leur nombre est équitable, les hyphes dans les deux échantillons considérés avec  $0,8.10^6$  germes / g de racines.

Les résultats obtenus sont en accord avec les résultats de certains auteurs comme **Rambelli (1973)**, qui, en étudiant la mycorhizosphère d'arbres forestiers ont trouvé. Cette dernière est favorable au développement de bactéries fluorescentes. Les bactéries à gram positif dont la croissance est favorisée par les racines mycorhizées. Ce résultat concorde avec ceux de **Dahm (1983)**, confirmant la prédominance de bactéries à gram négatif dans les racines de plantes forestières comme *Pseudomonas*, *Flavobacterium* ou *Achromobacter*. Il a été également établi que plus on s'éloigne des systèmes racinaires plus le taux de microorganismes diminue.

Une étude de l'Université de Nancy 1 a démontré l'existence de bactéries auxiliaires de la mycorhization (helper) et sont présentes dans la mycorhize ou le carpophore fongique et que l'effet obtenu est dû à l'action directe de l'isolat bactérien sur le champignon et/ou la plante (**Duponnois, 1992**). Elle a également démontré que les BAM (bactéries auxiliaires de la mycorhization) sont seulement localisées dans la partie extérieure du manteau dans un ciment polysaccharidique. Par contre, aucune bactérie n'a été observée dans les parties profondes du manteau et dans le réseau de Hartig. Ce travail a été mené sur les mycorhizes du Douglas (*Pseudotsuga menziesii*) par un champignon ectomycorhizien (*Laccaria laccata*). La présence de ces BAM stimulent l'infection ectomycorhizienne probablement par une inhibition d'organismes antagonistes de l'établissement de la symbiose ectomycorhizienne (**Oliveira & Garbaye, 1989**) (La coloration différentielle de Gram) effectuée sur les quatre isolats bactériens associés à la mycorhizosphère et à la rhizosphère sont de types gram positif (*Bacillus* et *Micrococcus*) et gram négatif (*Pseudomonas sp* et *Citrobacter*). L'ensemble de ces quatre bactéries sont actives dans la rhizosphère et mycorhizosphère. Ainsi, *Bacillus* et *Pseudomonas* solubilisent le phosphore inorganique et stimulent ainsi la croissance racinaire de *Quercus ilex*.

Il a été également rapporté que *Pseudomonas* joue un rôle prépondérant dans la chélation du fer qu'elle restitue ensuite à la plante grâce la libération de sidérophores. De cette étude apparaît la richesse de la rhizosphère et de la mycorhizosphère en populations bactériennes dont certaines sont des effets bénéfiques sur le processus de mycorhization ainsi, ces effets ont été démontrés en **1962** par **Moss** en infectant des plans de luzernes avec des spores de *Glamus mossal* non désinfectés. Le même effet a été obtenu par **Mc Afee & Fortin (1988)** en induisant une infection ecto-mycorhizienne de *Larix laricina* par l'addition d'u extrait de sol non stérile. Les genres *Citrobacter* et *Micrococcous* ont souvent été cités par la littérature comme solubilisants du phosphore inorganique et minéralisation du phosphore organique (**Tacon & al., 1991**) par des phytases.

La capacité qu'ont ces bactéries à coloniser la rhizosphère et la mycorrhizosphère pourrait s'expliquer non seulement par leur rhizocompétence (affinité pour les exsudats racinaires) mais aussi par leur temps de génération relativement court (Temps de génération de *Pseudomonas* est de 5h tandis que *Bacillus* est de 39h) acquérant ainsi la capacité de constituer des biofilms régulés par le Quorum Sensing.

La rhizocompétence fait référence à la capacité d'une plante à établir une interaction bénéfique avec les micro-organismes présents dans le sol, en particulier les champignons mycorrhiziens. Cette interaction permet d'améliorer la croissance, la nutrition et la résistance aux stress environnementaux tels que la sécheresse et la salinité. Certains micro-organismes de la rhizosphère peuvent soutenir la croissance des plantes, stimuler le rendement, réduire les infections et atténuer le stress sans causer de dommages. Ces microorganismes, connus sous le nom de PGPR (Plant growth promoting Rhizo Bacteria), jouent un rôle clé dans la santé et la productivité des plantes. **(Compant, 2010)**

Dans le cas des ectomycorhizes, les hyphes extra-matriciels pourraient servir de matrice par la diffusion des signaux chimiques induits par ces mycorrhizobactéries permettant ainsi une communication plus étendue entre ces populations bactériennes réussissant ainsi la colonisation de ces sites hôtes. **(Miquel-Guennoc, 2017)**

Une étude menée par **Domenech (2004)** sur les effets de deux espèces bactériennes *Bacillus licheniformis* et *Bacillus pumilus* sur la croissance, l'acquisition d'azote par les racines, la variabilité des communautés microbiennes dans la rhizosphère et le taux de mycorhization par *Pisolithus tinctorius* a montré que *Bacillus licheniformis* a stimulé la croissance des plantules de *Quercus ilex*. Cette bactérie est une PGPR qui a entraîné un effet bénéfique probablement par la production d'hormones comme les gibbérellines rapportées par **Gutierrez-Manero & al. (2001)**, mais les PGPR peuvent se révéler fatales aux champignons mycorrhiziens. En effet, ces mêmes auteurs ont constaté un effet négatif sur la croissance des plantules de *Quercus ilex* après une co-inoculation avec *P. tinctorius* et *B. licheniformis*. Ce fait pourrait être attribué à une altération de la paroi fongique par *B. licheniformis*.

# **Conclusion**

## Conclusion

À partir des résultats obtenus, lors de l'étude quantitative des communautés bactérienne associées au chêne vert (*Quercus ilex*) de Tala Guilef en Kabylie, dans la région de Tizi-Ouzou, il est apparu l'existence d'une densité bactérienne relativement élevée. En effet, le nombre de bactéries gram-négatives révélé était de  $5,77 \times 10^6$  germes / g de racines mycorhizées contre  $3,357 \times 10^6$  germes/g de racines non mycorhizées. Le nombre de bactéries totales s'élevait à  $0,41 \times 10^6$  germes/g de racines mycorhizées et  $0,65 \times 10^6$  germes/g de racines non mycorhizées. De plus, nous avons identifié la présence de bactéries fluorescentes avec une densité de  $0,8 \times 10^6$  germes/g de racines pour les deux types de rhizosphère étudiés.

Ces résultats suggèrent que la présence de la mycorhize a un impact positif sur la densité bactérienne dans la rhizosphère du chêne vert. Les racines mycorhizées présentent une plus grande population de bactéries gram-négatives et totales par rapport aux racines non mycorhizées.

Les résultats biochimiques fournissent des informations essentielles sur les capacités métaboliques et les caractéristiques distinctes des différentes souches bactériennes étudiées

L'étude qualitative de la flore bactérienne isolée a permis d'identifier quatre isolats bactériens dont deux à gram négatif et deux autres à gram positif très actifs dans la rhizosphère. Il s'agit de *Pseudomonas* et *Citrobacter*, *Micrococcus* et *Bacillus*.

Cette étude préliminaire pourrait être poursuivie par l'identification d'autres bactéries auxiliaires de la mycorhization en vue de la production de plants de chêne mycorhizés adaptés aux changements climatiques qui touchent notre planète en général et particulièrement l'Afrique du Nord qui se traduisent par une sécheresse qui s'accroît d'année en année.



## **Références bibliographiques**

**Allalou Y. (1986)**, Contribution à l'étude préliminaire de quelques propriétés des sols forestiers de la Kabylie du Djurdjura. Mémoire de DES. INES d'Agronomie, **46p**.

**ARPIN P. , KILLBERTUS G., PONGE J.,( 2011)**, Importance de la microflore et de la microfaune en milieu forestier. Hal science open science, **83p**.

**Belabbas, Z. (2010)**. Caractéristiques biologiques et écologiques des pontes du Bombyx disparate, de Chrea et de Djurdjura. Mémoire de DES. Ecole Nationale Supérieure Agronomique, **134p**

**Belaid M. (1986)**, Contribution à l'étude préliminaire de la distribution de la matière organique dans quelques sols forestiers de la Kabylie du Djurdjura. Mémoire de DES, INES d'Agronomie **52p**.

**Bouzar F. et Boukellal S. (1990)**, Contribution à l'étude des ectomycorhizes du cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) : Essai de classification. Thèse d'ingénieur d'état en Agronomie Université de Tizi-Ouzoun, **116p**.

**BOUSSENA, L. (2022)**. Focus sur le Chêne vert. Essence d'arbre méditerranéenne. **185p**

**Caudullo, WELK E., San-Miguel-Ayanz J., (2017)**. Chorological maps for the main European woody species, ELSEVIER, **666p**.

**Compant C., (2010)**. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants. Soil Biology & Biochemistry. **671p**

**DAHM H., (1983)**. The rhizosphere effect on mycorrhiza formation. Plant and Soil, **437p**.

**Dahmani-Megrerouche M., (2022)**. Typologie et dynamique des chênaies vertes en Algérie. Hal open science, **132p**.

**Derridj A., 1990**. Etude des pollinisations de *Cedrus atlantica* Manetti en Algérie. Thèse doctorat. Univ. Paul Sabatier, Toulouse. **288p**

**Domenech J., Fernandez M. T., & Scervino J. M., (2004)**. Influence of *Bacillus sp.* in the mycorrhizal development of *Pinus pinaster* seedlings. Revista Chilena de Historia Natural. **414p**

**Duponnois R. (1992)**, Les bactéries auxiliaires de la mycorrhization du Douglas (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) par *Laccaria laccata* souche S238. Thèse de doctorat de l'Université de Nancy 1 en Biologie forestière, **246p**.

**Dreyfus B. L., Diem H. G., Freire J., Keya S. O., & Dommergues Y. R., (1987).**nitrogen fixation in tropical agriculture and forestry owth. Rhizosphere community structure and mycorrhizal infection, **50p**

**Haichour R., (2019).** Stress thermique et limite écologique du Chêne vert en Algérie. Constantine: Mémoire de DES, Université MENTOURI, CONSTANTINE, **180p**

**La protection des forêts de la wilaya de Tizi Ouzou, (2023).**Donées du secteur des forets de la wilaya de TIZI OUZOU, **17p**

**Lee, T. T. (1977).** Promotion of plant growth and inhibition of enzymic degradation of indole-3-acetic acid by metabolites of carbofuran, a carbamate insecticide. Canadian Journal of Botany, **2986 p**

**McAfee B. J., & Fortin, J. A. (1988).** Interactions of vesicular-arbuscular mycorrhizal colonization and bacteria on the growth response of white spruce (*Picea glauca*) seedlings. Canadian Journal of Botany, **441p.**

**Merabet Z., ARAB M., (2019).** Caractérisation morphologique du chêne vert (*Quercus ilex*) dans la région semi-aride de Tlemcen et la région aride de Saida. Mémoire de DES. Université Dr Tahar Moulay -SAIDA, **67p**

**Moss S., (1962).** Mycorrhizal specificity in relation to plant succession. Transactions of the British Mycological Society, **70p**

**Mohamdi, H., (2018).** Utilisation d'un SIG à l'analyse diachronique de la cédraie de Tala Guilef (Djurdjura nord-ouest). Mémoire de DES, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, **55p.**

**Miquel-Guennoc. (2017).** A New Method for Qualitative Multi-scale Analysis. Bacterial Biofilms on Filamentous Fungal Colonies Using Confocal and Electron Microscopy. **94p**

**Thierry Gauquelin, G. M. (2016).** Mediterranean forests, land use and climate change. Hal open science. **26p**

**Oliveira R. & Garbaye J., (1989).** Phosphatase activity of the external mycelium of ectomycorrhizal fungi: II. Utilization of organic P sources by ectomycorrhizal fungi. New Phytologist, **82p.**

**Pochon T, (1962).** Technique de suspensions dilutions. Techniques d'analyse en microbiologie du sol, **111p**

**Rambelli, A. (1973).** The Rhizosphere of Mycorrhizae. In: Marks, G.C. and Kozlowski, T.T., Eds. Ectomycorrhizae: Their Ecology and Physiology, Academic Press, New York, **343p**.

**Zhang SH, Romane F., (1990).** Variations de la croissance radiale de *Quercus ilex* en fonction du climat. France: CNRS, centre emberger, BP 5051 Montpellier cedex 1, France, **226p**

**Le Tacon F., Brockwell J., & Hodgson L. (1991).** The role of gram-negative bacteria in mycorrhizal associations. In Symbiosis and nitrogen fixation in legumes. **204p**

**ZEGGANE M., (2022).** Contribution à l'étude comparative de la communauté ectomycorhizienne de trois populations de *Juniperus communis* dans le parc national de djurdjura. Tizi-Ouzou. Mémoire de DES, UMMTO, **72p**



# **Annexes**

## Annexe I : Milieux de culture

### ▪ Bactéries totales

C'est un milieu non sélectif permettant la croissance de toutes les bactéries présentes dans l'échantillon, sans distinction spécifique. Cependant, voici une formulation de base pour un milieu de culture général utilisé pour la croissance des bactéries totales :

Ingrédients (pour 1 litre) :

- Peptone : 10 g
- Extrait de viande : 5 g
- Chlorure de sodium (NaCl) : 5 g
- Agar (si le milieu est destiné à être solide) : 15 g (facultatif pour les milieux liquides)

Après mélange des ingrédients, le pH du milieu est ajusté à environ 7,2 à l'aide d'une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) ou d'acide chlorhydrique (HCl) si nécessaire. Ensuite, le milieu est stérilisé généralement par autoclavage à 121°C pendant 15 à 20 minutes avant utilisation.

### ▪ King B

Ce milieu est utilisé pour la caractérisation des bactéries fluorescentes, telles que les espèces de *Pseudomonas*.

La composition exacte du milieu de culture King B est la suivante :

Ingrédients (pour 1 litre) :

- Peptone : 15 g
- Protéose peptone : 10 g
- Lactose : 10 g
- Chlorure de sodium (NaCl) : 5 g
- Phosphate monopotassique : 1 g
- Phosphate disodique : 1 g
- Rouge de phénol : 0,025 g
- Agar : 15 g (si le milieu est destiné à être solide)

Après mélange des ingrédients, le pH du milieu est ajusté à environ 7,4 à l'aide de solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) ou d'acide chlorhydrique (HCl) si nécessaire.

- **Bactéries gram négatif ( Bactéries totales + Crystal violet )**

Contient la même composition avec le milieu de culture de bactéries totales mais en rajoutant le Crystal violet dans le but d'inhiber la croissance des bactéries gram positives. Le cristal violet est un colorant violet foncé qui se lie à la paroi cellulaire des bactéries, en particulier des bactéries gram positives, et altère leur perméabilité membranaire. Cela entraîne une suppression de leur croissance et de leur division.

En utilisant le cristal violet dans le milieu de culture pour bactéries totales, on peut créer un milieu sélectif qui favorise la croissance des bactéries gram négatives. Les bactéries gram négatives ne sont pas aussi affectées par le cristal violet car elles ont une paroi cellulaire différente, qui leur permet de résister davantage à l'action inhibitrice du colorant.

Ainsi, le cristal violet permet de distinguer les bactéries gram positives des bactéries gram négatives dans le milieu de culture pour bactéries totales. Ce milieu est utile lorsque l'on veut isoler et étudier spécifiquement les bactéries gram négatives présentes dans un échantillon, tout en empêchant ou en limitant la croissance des bactéries gram positives qui pourraient également être présentes.

## Résumé

Une étude quantitative de la rhizosphère et de la mycorrhizosphère de *Quercus ilex* à Tala Guilef en Kabylie dans la région de Tizi-Ouzou a permis de montrer la prédominance des bactéries à Gram négatif au niveau des racines non mycorhizées et des racines mycorhizées avec respectivement  $5.77 \times 10^6$  germes/g de racines et  $3.35 \times 10^6$  germes/g de racines. Pour ce qui est des bactéries totales, des densités respectives de  $0.41 \times 10^6$  germes/g de racines et  $0.65 \times 10^6$  germes/g de racines sec ont été trouvés dans les racines non mycorhizées et les racines mycorhizées. Le dénombrement des bactéries fluorescentes a révélé des densités égales pour les deux types de rhizosphère.

L'étude qualitative de la flore bactérienne isolée a permis l'identification de quatre genres bactériens, à savoir *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus* et *Citrobacter*.

Mots clés : *Quercus ilex*, rhizosphère, bactéries, Kabylie, mycorrhizosphère.

## Abstract

A quantitative study of the rhizosphere and mycorrhizosphere of *Quercus ilex* in Tala Guilef, Kabylie, in the Tizi-Ouzou region, revealed the predominance of Gram-negative bacteria in both non-mycorrhizal and mycorrhizal roots, with respective densities of  $5.77 \times 10^6$  CFU/g of roots (CFU: Colony Forming Unit) and  $3.35 \times 10^6$  CFU/g of roots. Total bacterial densities of  $0.41 \times 10^6$  CFU/g of roots and  $0.65 \times 10^6$  CFU/g of roots were found in non-mycorrhizal and mycorrhizal roots, respectively. Enumeration of fluorescent bacteria revealed equal densities in both types of rhizosphere. The qualitative study of the isolated bacterial flora identified four bacterial genera, namely *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, and *Citrobacter*.

Keywords: *Quercus ilex*, rhizosphere, bacteria, Kabylie, mycorrhizosphere.