

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE  
LA TERRE DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf : .../UAMOB/FSNVST/2024

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE MASTER

Domaine : SNV. Filière : Sciences biologiques.

Spécialité : Microbiologie Appliquée.

Présenté par :

*MOSTEGHANEMI Hayet & ASSEM Manel*

*Thème*

**Caractérisation microbiologique de la  
fourmi.**

Soutenu le : 27/06/2024

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Mme. Ider. DJ.</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Présidente</i>
<i>Mr. Rai.A</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>
<i>Mr. Sahraoui. L</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Invité d'honneur</i>
<i>Mme. Bachiri. T</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Mme. Rahmouni. A.</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Co-promotrice</i>

Année Universitaire : 2023/2024

## Remerciements

*Avant tout, nous remercions ALLAH le tout puissant qui nous a fait ouvrir les portes du savoir, qui nous a donné la force et la volonté de poursuivre nos études et d'effectuer ce travail.*

*Nous saisissons cette occasion pour adresser nos remerciements les plus profonds à notre promotrice le Dr **T. Bachiri** pour son soutien, son encadrement précieux et ses orientations ainsi que pour le temps qu'elle nous a consacré pour mener à bien notre travail.*

*A notre Co-promotrice **Mme Rahmouni A** pour sa collaboration précieuse et son soutien constant tout au long de ce travail*

*Nous désirons aussi remercier **Mme Ider DJ**, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de notre soutenance.*

*Nous remercions également **Mr. Rai** pour l'honneur qu'il a réservé d'avoir accepté d'examiner ce travail*

*Nos sincères remerciements à **Mr. Sahraoui** pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant notre invitation*

*Enfin, nos remerciements vont aussi aux ingénieurs des laboratoires de la faculté. Leurs soutiens technique et leurs expertises ont été essentiels pour la réalisation des expériences et des analyses nécessaires à ce travail*

## Dédicaces

*Au bon Dieu, pour la guidance et la grâce infinie.*

*A la plus chère mère au monde ZAHIA, Pour ton amour infini, ta sagesse inestimable et ton soutien indéfectible. Pour tous les sacrifices silencieux, les sourires réconfortants et les conseils avisés. Tu es le pilier de ma vie, la lumière qui guide mes pas et l'exemple de force et de douceur.*

*À mon très cher père RABAH, Pour ta force, ton courage et ton amour inconditionnel. Pour tous les sacrifices que tu as faits et les leçons précieuses que tu m'as enseignées. Tu es mon héros, mon modèle et mon guide. Ta présence dans ma vie est un cadeau inestimable.*

*À mon unique et adorable fils MOHAMED AMINE, source de ma plus grande fierté.*

*À mes très chères filles LINA ET ELINE, mes précieuses étoiles qui illuminent ma vie.*

*À mes adorables sœurs HANANE et son marie, AMINA et son marie, SORAYA ET AMIRA, pour leur soutien et leur affection constants.*

*À mes merveilleuses nièces, NADINE, SERINE et SOPHIA pour leur joie et leur innocence inspirantes.*

*Et à tous les membres de la promotion de microbiologie 2024, pour notre camaraderie et notre persévérance collective*

*A mon binôme MANEL et son petit AMIRE*

*Pour ma détermination, ma résilience et ma capacité à surmonter les défis. Pour les nuits sans sommeil, les efforts incessants et les moments de doute transformés en succès. Pour la persévérance et la croyance en mes rêves.*

*Avec fierté et gratitude,*

**HAYET**

## Dédicaces

*A ma très chère mère\_ ma vie et mon bonheur\_, qui m'a donné l'amour et la tendresse, qui s'est tant sacrifiée pour mon bonheur et m'a soutenue dans toutes les étapes de ma vie, et elle continue de m'encourager et de croire en moi.*

*Maman, la plus grande bénédiction de ma vie.*

*A ma chère famille et mon petit ange Amir.*

*A mes chers frères, Mohamed et Aymen.*

*A mes chères sœurs, Amina, Meriem, Sarah et Zinouba.*

*A mes chères nièces Mayssa, Melissa et Zahra, et mes deux neveux Amine et Montassir.*

*A mon binôme Hayet.*

**MANEL.**

## Table des Matières

Remerciements.....	I
Dédicaces .....	II
Table des Matières.....	IV
Liste des figures .....	VII
Liste des abréviations .....	IX
Introduction générale.....	1

### Chapitre I : Synthèse bibliographique

I-1 -Définition du sol.....	4
I-2-La faune du sol .....	4
I-3- Classification de la faune du sol (pedofaune) .....	4
I-3-1- Les micro-organismes présents dans le sol.....	5
I-3-2- La microfaune.....	5
I-3-2-1- Les protozoaires .....	5
I-3-2-2- les nématodes .....	5
I-3-3- La méso faune .....	5
I-3-3-1- Les collemboles.....	6
I-3-3-2- Les acariens.....	6
I-3-4- La macrofaune .....	6
I-3-4-1- Les diptères .....	6
I-3-4-2- Les coléoptères.....	8
I-4-Planète des fourmis.....	8
I-4-1-Les reines .....	8

I-4-2-Les ouvrières .....	8
I-4-3-Les mâles.....	9
I-5-Morphologie des fourmis .....	9
I-5-1-Répartition biogéographique .....	10
I-5-2-Messor barbarus.....	10
I-5-3- Crematogaster scutellaris .....	11
I-5-4-Les interactions des fourmis dans le monde microbien.....	11
I-5-4-1-Symbiose fourmis-bactéries.....	11
I-5-4-2-Mutualismes fourmis-Champignons .....	12
I-5-4-3-Parasitisme fourmis-micro-organismes .....	13
I-6-Microbiote des fourmis .....	13
I-6-1-Composition du microbiote des fourmis.....	13
I-6-2-Les mycètes .....	14
I-6-3-Rôle de microbiote des fourmis.....	15
I-6-4-Rôle des bactéries intestinal dans le développement normal de la cuticule chez les fourmis tortues herbivores .....	16
I-6-5-Les bactéries intestinales sont essentielles au développement normal des cuticules chez les fourmis tortues herbivores .....	17

## **Chapitre II : Matériel et méthodes**

II- Matériel et méthodes.....	19
A-1- Échantillonnage.....	19
A-1- 2-Identification des fourmis collectées.....	20
A-2-1-Les Principaux caractères systématiques intervenants dans l'identification des Formicidae .....	20
B-2-1- Caractérisation du microbiote cuticulaire .....	21

B-2-1-2-Isolement et identification des souches .....	22
B-2-2- Caractérisation du microbiote intestinale : .....	23
1. Extraction de l'intestin de fourmis : .....	23
B-2-2-2 Isolement et identification des souches : .....	24

### **CHAPITRE : III Résultats et discussions**

III-1- Identification des fourmis.....	27
A - Messor barbarus .....	27
B -Crematogaster scutellaris .....	28
III-2-Résultat d'identification des échantillons étudié .....	29
III-3- Évaluation phénotypique et caractérisation de la diversité bactérienne.....	29
III-3- 1- Cuticules des fourmis .....	30
III-3- 2- Intestins des fourmis.....	32
III-4- DISSCUSSION DES RESULTAS .....	35
Conclusion .....	45

Références bibliographiques

Annexe

Résumé

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Schéma des différents groupes de la biodiversité du sol classes par taille .....	7
<b>Figure.2 :</b> morphologie générale d'une fourmi. ....	9
<b>Figure.3:</b> répartition biogéographique des populations des fourmis dans le monde.....	11
<b>Figure 4:</b> Les étapes de prélèvement.....	21
<b>Figure 5:</b> Récapitulatif des étapes d'isolement à partir de cuticule de fourmis.....	24
<b>Figure 6 :</b> Extraction de l'intestin de fourmis.....	25
<b>Figure 7:</b> appareil digestif de fourmi sous la loupe (photo originale).....	25
<b>Figure 8 :</b> Récapitulatif des étapes d'isolement à partir des intestins de fourmis.....	26
<b>Figure 9:</b> <i>Messor barbarus</i> sous la loupe (photo original).....	27
<b>Figure 10:</b> <i>Crematogaster scutellaris</i> sous la loupe (photo original).....	28
<b>Figure11:</b> résultats obtenus pour l'étude des cuticules de fourmis.....	49
<b>Figure 12:</b> taux des souches bactérienne des cuticules de fourmis sur chaque milieu de culture MAC CONKEY ,CHAPMAN,MRS .....	32
<b>Figure 13:</b> Pourcentage des souches à Gram -positif et Gram- négatif pour les souches bactériennes des cuticules des fourmis.....	35
<b>Figure 14:</b> taux des souches bactérienne des intestins de fourmis sur chaque milieu de culture MAC CONKEY, CHAPMAN,MRS .....	36
<b>Figure15 :</b> Pourcentage des souches à Gram -positif et Gram- négatif dans des intestins de fourmis .....	36
<b>Figure 16 :</b> Les résultats d'identification.	

<b>Tableau.1 :</b> origine des échantillons .....	20
<b>Tableau.2:</b> Taxonomie de Messor barbarus.....	27
<b>Tableau 3:</b> Taxonomie de Crematogaster scutellaris.....	29
<b>Tableau 4 :</b> résultats obtenus dans l'étude des intestin de fourmis .....	51

## **Liste des abréviations**

BN : Bouillon nutritif.

ED : Eau distillée.

MO : Micro-organismes.

TSI : Triple Sugar Iron.

ST : Solution tampon

CU : cuticule

INT : intestin

# **Introduction générale**

Parmi les entités qui contribuent au fonctionnement des écosystèmes, les communautés microbiennes sont reconnues depuis longtemps pour leur rôle crucial dans le fonctionnement global de la biosphère (Falkowski *et al.*, 2008). Elles participent à de nombreux processus biogéochimiques et jouent un rôle central dans des fonctions vitales des écosystèmes telles que la production primaire, le cycle des nutriments, la propagation des maladies et la transformation des polluants.

Les fourmis forment une famille d'insectes sociaux très diversifiée, qui domine les écosystèmes terrestres à travers le monde. Selon (Veron 2002), leur abondance entraîne une acidification des sols par la production d'acide formique.

Les microbiotes cubiculaires, présents sur la surface externe des fourmis, jouent un rôle crucial dans la défense contre les pathogènes externes et peuvent également participer à la communication chimique entre les membres de la colonie. Ces communautés microbiennes peuvent varier en fonction de l'environnement, de l'espèce de fourmi et des interactions spécifiques avec d'autres organismes, y compris les plantes et les autres insectes.

Les interactions entre les fourmis et les micro-organismes présents dans leur habitat sont complexes. La promiscuité entre les individus, l'environnement riche en micro-organismes et l'introduction d'éléments étrangers dans la fourmilière (proies, feuilles, etc.) constituent des risques infectieux pour la colonie. Cependant, leur diversité d'espèces et leur abondance suggèrent que les stratégies de défense contre les pathogènes des fourmis sont extrêmement efficaces. Les principaux éléments de ce succès s'expliquent par leur système immunitaire performant, leurs mécanismes d'hygiène (zones de déchets, lavages et léchages mutuels « grooming ») et leurs associations avec des micro-organismes présents sur leur cuticule à des fins défensives. Ainsi, la cuticule des fourmis sert à la fois de barrière physique contre l'intrusion de micro-organismes dans l'hémolymphe et de substrat pouvant être colonisé par de nombreux micro-organismes bénéfiques (Douglas, 2015). L'interaction positive entre le microbiote cuticulaire et les fourmis a même conduit, par un processus de coévolution, au développement de structures morphologiques particulières chez l'hôte.

Parallèlement, le microbiote intestinal des fourmis est essentiel pour la décomposition des aliments et l'absorption des nutriments. Des études récentes ont montré que les Firmicutes et les Proteobacteria sont souvent dominants dans le microbiote intestinal de nombreuses espèces de fourmis, suggérant leur rôle clé dans les processus digestifs et métaboliques. Ces

## Introduction générale

---

communautés microbiennes intestinales peuvent également affecter la santé et la longévité des fourmis, ainsi que leur capacité à résister aux infections et aux stress environnementaux.

Le microbiote des fourmis est une composante essentielle de leur biologie, influençant leur nutrition, leur défense immunitaire et leur adaptation écologique. Comprendre le microbiote des fourmis ouvre de nouvelles perspectives sur leur écologie, leur évolution et leur potentiel pour des applications biotechnologiques. Très peu d'études ont été publiées sur le microbiote des fourmis dans le monde. Dans ce contexte, nous avons entrepris des recherches pour examiner les micro-organismes présents chez des fourmis vivant dans la wilaya de Bouira en Algérie, selon la démarche expérimentale suivante :

- L'isolement et l'identification des souches bactériennes à partir des cuticules des fourmis.
- L'isolement et l'identification des souches bactériennes présentes dans les intestins des fourmis.

**Chapitre I :**  
**Synthèse bibliographique**

## **I-1 -Définition du sol**

Le sol, défini comme la partie de l'écorce terrestre en contact avec l'atmosphère (Alvarez *et al.*, 2002), est soumis à des transformations à la fois biotiques et abiotiques. Ainsi, il est considéré comme le résultat de l'interaction complexe entre différents éléments tels que la roche, l'eau et l'air. Il n'est donc pas un espace d'activité, mais également un espace de vie. C'est un environnement naturel complexe et varié (Gobat *et al.*, 2010) où la diversité est omniprésente et chaque élément occupe un créneau spécifique dans l'écosystème, défini par son influence spatiale et temporelle (Lavelle *et al.*, 2003).

## **I-2-La faune du sol**

Il est largement reconnu que la diversité de la faune du sol joue un rôle crucial dans les processus physiques, chimiques et biologiques qui influencent le fonctionnement et l'évolution des sols naturels (Lavelle *et al.*, 2006). En favorisant indirectement l'activité biologique globale du sol et en contribuant à sa structure, la faune du sol joue un rôle essentiel dans sa formation et sa dynamique.

Effectivement, la faune du sol peut également contribuer à la structuration de celui-ci de plusieurs manières. D'une part, elle participe à l'intégration des débris végétaux en décomposition avec la partie minérale du sol. D'autre part, à l'instar des autres animaux, elle favorise la pénétration en profondeur des matières organiques au sein des chaînes alimentaires, contribuant ainsi à une meilleure répartition des éléments nutritifs et à la formation de niches écologiques diversifiées.

## **I-3- Classification de la faune du sol (pedofaune)**

Il est possible d'utiliser une classification fonctionnelle en reliant les organismes à leur environnement, en particulier aux ressources qu'il offre (alimentation et habitat) (Freyssinel *et al.*, 2007). On peut classer les organismes du sol en quatre groupes en fonction de la taille des individus : microorganismes (ou microflore), microfaune, mésofaune et macrofaune. Cette catégorisation englobe en particulier la capacité des divers organismes à se déplacer dans les pores du sol.

**I-3-1- Les micro-organismes présents dans le sol**

Les micro-organismes constituent une multitude dans le sol, exhibant une vaste diversité de taxons et de fonctions. Parmi eux, on compte les bactéries, les champignons, les micro-algues, les archées et les protistes (Davet, 1996).

**I-3-2- La microfaune**

La microfaune, caractérisée par une taille inférieure à 0,2 mm, comprend principalement les nématodes et les protozoaires. Leur régime alimentaire se compose principalement de champignons, de bactéries, de débris organiques et d'algues (Girard *et al.*, 2005).

**I-3-2-1- Les protozoaires**

Un protozoaire est un organisme unicellulaire eucaryote, caractérisé par la présence d'un noyau et d'autres organites cellulaires entourés par une membrane, tout en étant constitué d'une seule cellule.

**I-3-2-2- les nématodes**

Les animaux les plus répandus et abondants sur la planète se trouvent principalement dans les sols riches en matières organiques.

Les nématodes du sol sont des indicateurs significatifs du fonctionnement du sol en raison de leurs multiples qualités. Ils fournissent une foule d'informations sur l'état de la microchaîne trophique du sol, qui joue un rôle crucial dans la décomposition et la minéralisation des nutriments (Villeneuve, 2009).

**I-3-3- La méso faune**

Les arachnides et les insectes, tels que les collemboles, dont la taille individuelle varie de 0,2 à 4 mm, sont principalement inclus dans cette catégorie. Leur rôle principal est de déchieter la litière. Les collemboles, de petits insectes, se nourrissent principalement de champignons et de leurs spores, contribuant ainsi à la décomposition des débris organiques et à l'amélioration de la structure du sol (Gobat *et al.*, 2010).

**I-3-3-1- Les collemboles**

Les collemboles, microarthropodes de moins de 1 mm, sont les deuxièmes arthropodes les plus abondants en termes d'espèces et d'individus dans le sol, juste après les acariens (Ait Mouloud, 2011).

Leur contribution à la restitution de la matière organique au sol et à la décomposition de la litière est cruciale. Certains collemboles peuvent même servir d'indicateurs de fertilité du sol. Cependant, ils sont également la proie de divers prédateurs tels que les araignées, les acariens et différentes espèces de fourmis (Deprince, 2003).

**I-3-3-2- Les acariens**

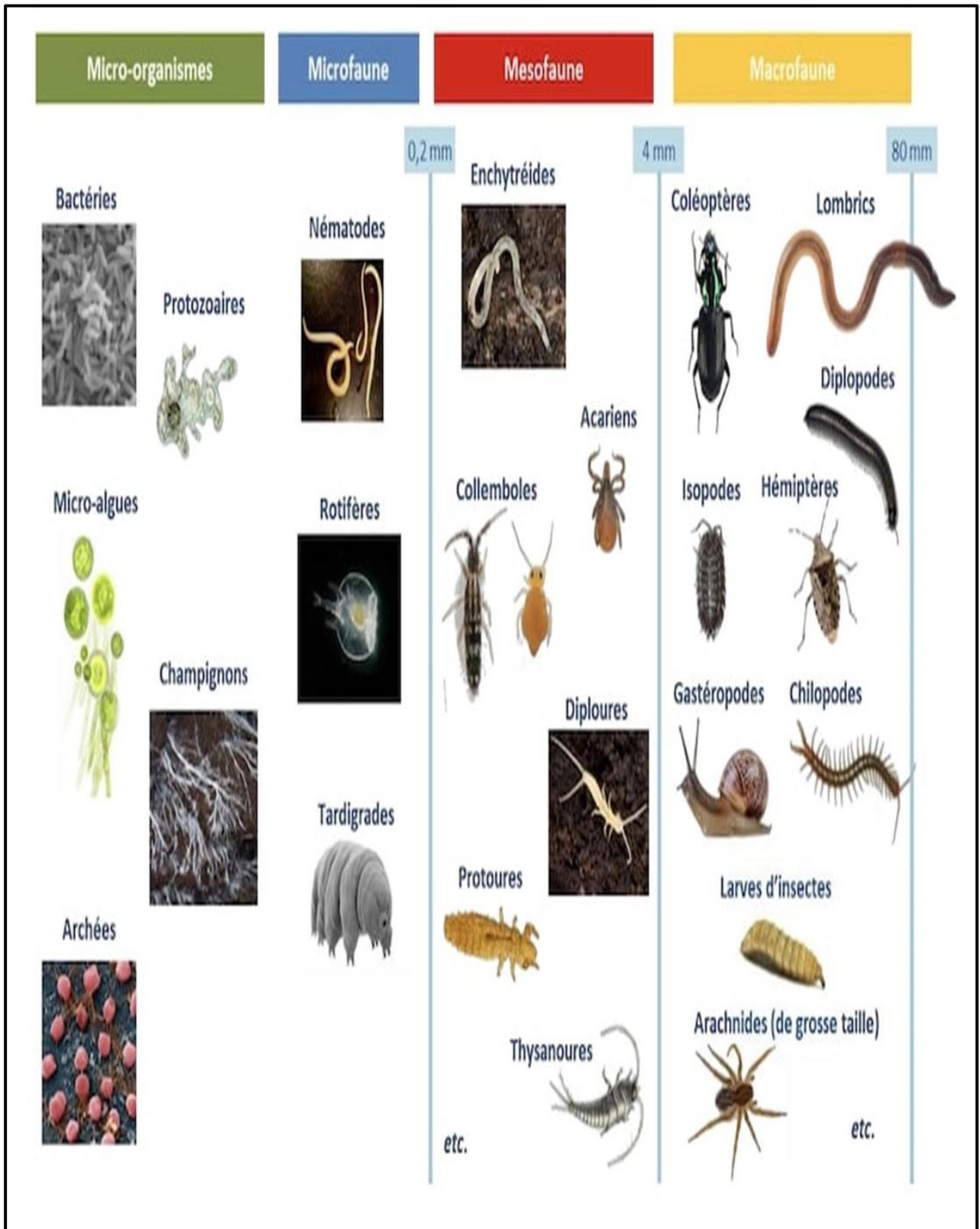
D'après (Davet 1996), les acariens du sol sont des consommateurs très efficaces de débris végétaux. Parmi eux, certains sont des phytosaprophages, se nourrissant de matière végétale en décomposition, tandis que d'autres agissent en tant que prédateurs, se nourrissant de nématodes, de collemboles et de larves d'insectes.

**I-3-4- La macrofaune**

Ce groupe est composé d'animaux mesurant entre 4 et 80 mm de taille. On y retrouve les lombrics, les larves d'insectes (principalement des larves de Diptères et de Coléoptères), les cloportes, les myriapodes, les limaces et les escargots, ainsi que les araignées et d'autres insectes (Brown *et al.*, 2002).

**I-3-4-1- Les diptères**

Ce type d'insecte se caractérise par sa paire d'ailes unique et joue plusieurs rôles essentiels. En tant que nettoyeur, il contribue au maintien de l'équilibre écologique en transformant la matière organique et en éliminant les déchets indésirables (Feryssinel et al, 2007).



**Figure 1:** Schéma des différents groupes de la biodiversité du sol classes par taille.

(Vincent,Q 2018 )

### **I-3-4-2- Les coléoptères**

Les coléoptères forment l'ordre le plus vaste du règne animal, avec des tailles variant de 0,25 mm à 10 cm. Environ vingt familles de coléoptères sont représentées dans le sol, montrant des adaptations très diverses aux conditions de ce milieu, que ce soit au niveau de la morphologie ou du régime alimentaire (Freyssinel, 2007).

Les adultes des taupins se nourrissent principalement d'organes de fleurs et de feuilles. Ce sont leurs larves, communément appelées vers fils de fer, qui causent des dommages aux cultures. Lorsqu'elles mesurent moins de 5 mm, elles ne causent de véritables dégâts que si elles sont en grand nombre. Cependant, les jeunes larves peuvent infliger des dommages considérables aux semis et aux jeunes plantes en attaquant le système racinaire. Le cycle de vie des taupins, de l'œuf à l'adulte à travers plusieurs stades larvaires, dure de deux à cinq ans selon l'espèce, le climat et la disponibilité de nourriture (Simone *et al.*, 2011).

### **I-4-Planète des fourmis**

Les fourmis, membres de la famille des formicidés, appartiennent à l'ordre des hyménoptères, tout comme les guêpes et les abeilles. Ces insectes, dépourvus de squelette interne, sont des invertébrés. Ils vivent en colonies généralement constituées d'une reine, de nombreuses ouvrières et de mâles. Leur taille peut varier de quelques millimètres à quelques centimètres (Maxime K, 2018).

#### **I-4-1-Les reines**

La reine est une fourmi adulte reproductrice qui assure la direction de la fourmilière. Au cours de sa vie, elle peut pondre jusqu'à un million d'œufs. Sa durée de vie peut s'étendre de 9 à 15 ans, ce qui en fait l'individu le plus imposant de toute la colonie (Maxime K, 2018).

#### **I-4-2-Les ouvrières**

Les ouvrières jouent plusieurs rôles essentiels au sein de la colonie de fourmis. Elles sont chargées de construire et d'aménager le nid, d'entretenir la fourmilière, d'approvisionner le nid en nourriture, et de protéger leurs congénères. De plus, elles nourrissent d'autres ouvrières trop occupées en régurgitant dans leur bouche des aliments prédigérés.

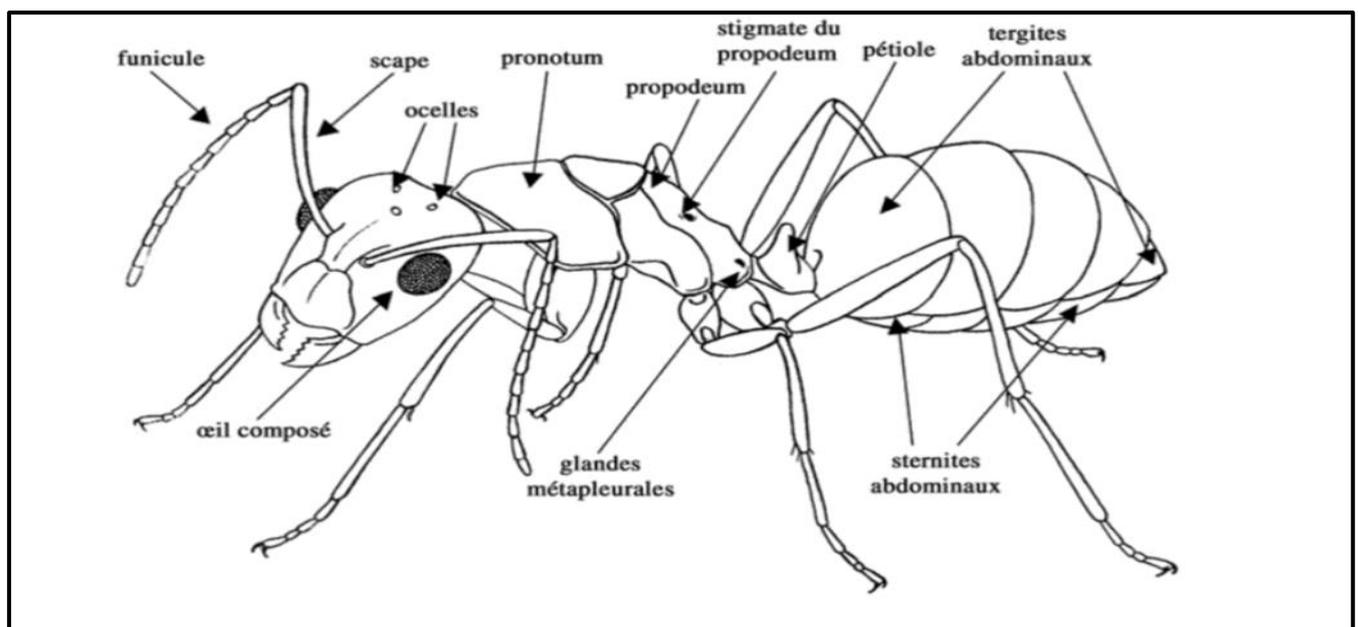
Certaines ouvrières ont un rôle de nourrice exclusif. Elles prennent soin des œufs jusqu'à leur éclosion, apportent de la nourriture aux larves et veillent sur elles pour assurer leur protection et leur bien-être (Maxime K, 2018).

### I-4-3-Les mâles

Les mâles, appelés aussi "princes", n'ont pour unique préoccupation que la fécondation des fourmis destinées à devenir des reines avant de rejoindre de nouvelles fourmilières. Leur existence est brève et peu enviable puisqu'ils s'accouplent une seule fois et meurent immédiatement après (Maxime K, 2018).

### I-5-Morphologie des fourmis

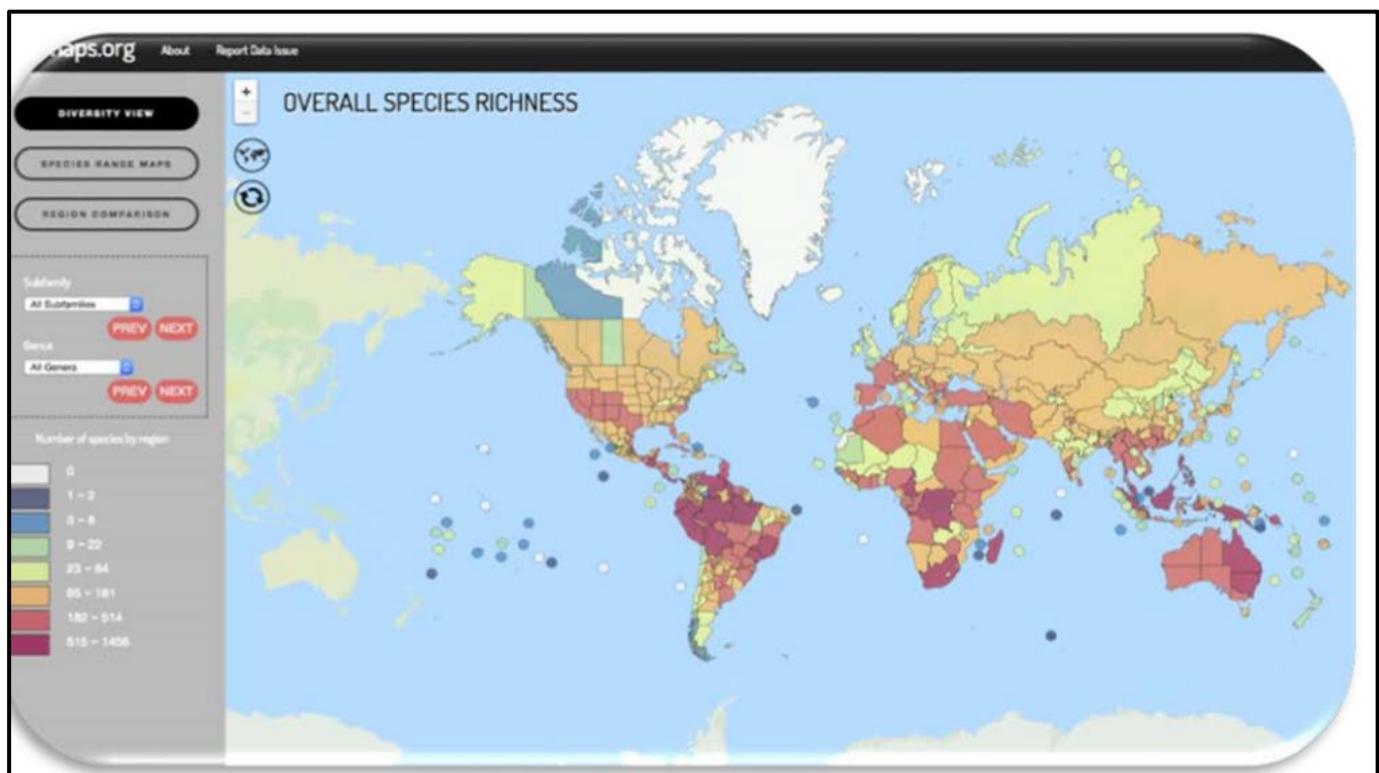
Comme tous les insectes, le corps d'une fourmi est divisé en trois parties distinctes : la tête, le thorax (aussi appelé mésosome), et l'abdomen (également connu sous le nom de gastre ou métasome). Les fourmis possèdent une tête généralement volumineuse et un abdomen mince et ovale relié au thorax, ou section médiane, par une taille étroite. Dans cette région mince, on trouve une ou deux extensions en forme de nageoires. Les antennes des fourmis sont toujours coudées. Elles ont également deux ensembles de mâchoires : une paire externe utilisée pour creuser, transporter des objets comme de la nourriture, et creuser des tunnels, tandis que la paire interne est utilisée pour mâcher.



**Figure.2 :** morphologie générale d'une fourmi (Mueller R ,2005).

### I-5-1-Répartition biogéographique

En raison de leur abondance et de leur répartition mondiale, les fourmis sont considérées comme l'un des organismes les plus prédominants de la planète. De nombreuses espèces sont localisées dans des régions tropicales encore peu explorées. Des pays comme le Laos, le Cambodge, le Togo, le Bénin, le Malawi et le nord-est du Brésil manquent de connaissances approfondies sur leurs populations de fourmis, tout comme certaines régions d'Europe, notamment la Bosnie. En Suisse, la plupart des espèces de fourmis sont bien documentées, mais en Lituanie ou en Biélorussie, la majorité reste encore inconnue (Bardgett *et al.*, 1999).



**Figure.3** : répartition biogéographique des populations des fourmis dans le monde (Bardgett *et al.*, 1999).

### I-5-2-Messor barbarus

Il s'agit d'une espèce de fourmi granivore largement répandue dans tout le bassin méditerranéen. On la trouve principalement dans les pays suivants (F. M. Azcárate *et al.*, 2005).

- **En Europe du Sud** Espagne, Portugal, France, Italie, Grèce, Croatie, Monténégro, Albanie, Macédoine du Nord, Bulgarie, Turquie
- **En Afrique du Nord** Maroc, Algérie, Tunisie, Libye, Égypte

### **I-5-3- *Crematogaster scutellaris***

La *Crematogaster scutellaris* est présente dans les zones tropicales, en Asie, en Afrique du Nord, en Amérique et dans une petite partie de l'Australie (Henri Cagniant, 2005).

- **En Afrique du Nord**, on la trouve notamment au Maroc, en Algérie, en Tunisie et en Libye.

### **I-5-4-Les interactions des fourmis dans le monde microbien**

Les microbes, comprenant les unicellulaires, les bactéries et les virus, jouent un rôle crucial dans le fonctionnement du monde vivant. Les interactions entre les fourmis et ce monde microbien mettent en évidence leur profonde intégration malgré leur petite taille.

#### **I-5-4-1-Symbiose fourmis-bactéries**

Les interactions entre les fourmis et les bactéries représentent un domaine fascinant et complexe de l'écologie microbienne et de la biologie évolutive. Ces interactions influencent non seulement la dynamique des populations de fourmis, mais également la diversité et la répartition des bactéries symbiotiques et pathogènes. Elles englobent une variété de relations, notamment des symbioses mutualistes, des interactions pathogènes et des mécanismes de défense antibactériens.

Les *Camponotus* fournissent un exemple intéressant de symbiose entre les fourmis et les bactéries. Ces dernières aident les fourmis à assimiler les acides aminés et à renforcer leur défense immunitaire (Arditi *et al.*, 2005).

De même, les fourmis *Céphalotes* illustrent une autre forme de symbiose bactérienne. Elles se nourrissent de diverses sources, y compris le nectar, le pollen, les champignons, ainsi que l'urine de mammifères et les excréments d'oiseaux riches en azote, qui seraient autrement inaccessibles sans l'aide de microbes.

Des études démontrant l'importance des bactéries intestinales dans l'apport nutritionnel des fourmis ont été menées en les soumettant à un régime à base d'urée, le principal déchet urinaire, tout en éliminant leurs bactéries intestinales par des antibiotiques. Les résultats ont montré que les fourmis ne pouvaient pas obtenir suffisamment d'azote uniquement à partir de l'urée. Les fourmis Céphalotes, en conservant les bactéries productrices d'azote dans leurs intestins, ont ainsi démontré leur capacité à survivre en consommant des aliments dédaignés par d'autres insectes. Cette adaptation s'accompagne d'une réduction de leurs capacités offensives et de modifications dans leur régime alimentaire, illustrant une évolution en réponse à des conditions alimentaires moins riches (Aira *et al.*, 2009).

#### **I-5-4-2-Mutualismes fourmis-Champignons**

Dans les écosystèmes néotropicaux, un modèle de relation mutualiste entre les champignons et les fourmis est observé. Le groupe monophylétique des Attini, appartenant à la sous-famille des Myrmicinae, compte plus de 220 espèces de fourmis qui se nourrissent de champignons (Mueller *et al.*, 2001).

Ce partenariat ne se limite pas aux seules fourmis Attini, mais s'étend également aux termites Macrotermitinae et aux coléoptères des familles Scolytinae et Platipodinae (Farrell *et al.*, 2002).

Les champignons cultivés par ces fourmis proviennent de différentes lignées et sont cultivés sur divers substrats. Les Attines basales utilisent principalement des fleurs, des carcasses d'arthropodes, des graines et des fragments de bois, tandis que les Attines supérieures préfèrent les feuilles et les fleurs fraîches (Mueller *et al.*, 2005).

La protection du cultivar chez les Attines est assurée par deux processus principaux. Premièrement, un troisième symbiote mutualiste protège le cultivar contre un pathogène spécialisé. Cette bactérie, un symbiote du genre *Streptomyces*, produit des antibiotiques spécifiquement conçus pour lutter contre le champignon parasite *Escovopsis* (Ascomycete) (Little *et al.*, 2006).

Deuxièmement, les fourmis produisent et sécrètent des antibiotiques au niveau de glandes exocrines spécialisées, telles que les glandes mandibulaires et métapleurales. Ces glandes produisent différentes molécules qui, agissant en synergie, offrent une protection

globale contre diverses bactéries et champignons pathogènes (Mueller *et al.*, 2001) ; (Mendonca *et al.*, 2009).

#### **I-5-4-3-Parasitisme fourmis-micro-organismes**

Il existe même une espèce endémique d'Andalousie, nommée *Cataglyphis floricola*, qui est spécialisée dans ce type de relation avec les champignons. Différentes espèces de champignons se développent dans le corps de la fourmi, même si celle-ci se lèche régulièrement. Selon (Áthori *et al.*, 2015), les ouvrières infectées par des *Rickia* (Laboulbéniales) perdent davantage d'eau et leur survie est réduite. Selon (Espadaler *et al.*, 2012), une ouvrière malade quitte le nid pour mourir après avoir contracté une infection par des Laboulbéniales ou des *Metarhizium*.

Le champignon *Ophiocordyceps*, parasite des *Camponotus*, peut véritablement prendre possession du cerveau de la fourmi. La fourmi infectée se laisse tomber de la canopée et reste accrochée sur une feuille par ses mandibules, où elle finira par mourir. Ce comportement, déjà décrit par Wallace dans les années 1850, favorise la dispersion des spores du champignon. On qualifie cette fourmi de « zombie ». Le champignon sécrète de nombreuses protéines et autres métabolites que l'on retrouve chez la fourmi décédée. Parmi elles, la sphingosine, un élément crucial pour le fonctionnement neuronal, ainsi que l'acide  $\gamma$ -guanidinobutyrique, connu pour être responsable d'empoisonnements par champignons en Chine (Hughes, 2011 ; Pennisi, 2014).

#### **I-6-Microbiote des fourmis**

Le microbiote des fourmis est essentiel pour leur physiologie, leur santé et leur écologie. Les interactions entre les fourmis et les micro-organismes de leur environnement sont complexes et varient selon les espèces de fourmis, leur habitat et leur mode de vie.

##### **I-6-1-Composition du microbiote des fourmis**

Les bactéries sont les principaux protagonistes du microbiote des fourmis, mais ce dernier peut également englober des champignons, des virus et divers autres microorganismes. Sa composition fluctue en fonction des espèces de fourmis et de leur habitat écologique spécifique.

Plusieurs études récentes se sont penchées sur les microbiomes des fourmis, révélant des différences significatives dans la composition de ces communautés.

Par exemple, les taxons bactériens Actinobacteria, Lactobacillales, Enterobacterales, Clostridiales, Burkholderiales, Actinomycetales, Blochmannia et Wolbachia occupent une place importante dans les microbiomes des taxons de fourmis Camponotini (Ramalho *et al.*, 2017 ; Ramalho *et al.*, 2019), Attini. (Kellner *et al.*, 2015) ; (Vieira *et al.*, 2017), *Formica exsecta* présente une communauté microbienne distincte à la fois dans le corps (cette étude) et dans la matrice environnementale environnante qui constitue leur monticule de nidification ( Lindström *et al.*, 2021). Ceux-ci incluent les Actinomycetales, les Hyphomicrobiennes, les Méthylobacterium, les Mycobacterium, les Nitrobacteraceae, les Pseudomonas et les Propionibacterium. Parmi ceux-ci, Méthylobacterium et Mycobacterium ont des associations documentées avec les fourmis (Ishak *et al.*, 2011).

*Pseudomonas* est un pathogène connu des insectes (Flury *et al.*, 2016), tandis que *Mycobacterium* est un saprophyte commun dans le sol, mais le genre contient également des pathogènes (Demangel *et al.*, 2009)

### I-6-2-Les mycètes

Même lorsque les fourmis se lèchent, leur corps peut abriter plusieurs espèces de champignons. Une colonie de fourmis est susceptible d'être rapidement décimée par des champignons tels que ceux du type *Aspergillus*.

L'infection par des *Rickia* (Laboulbéniales) entraîne une augmentation de la perte d'eau et une diminution de la survie des fourmis (Báthori *et al.*, 2015). Une fois infectée par des Laboulbéniales (Espadaler *et al.*, 2012) ou des *Metarhizium* (Bos *et al.*, 2014), la fourmi ouvrière malade quitte le nid pour finalement succomber. Chez les fourmis hôtes, les cordyceps se développent et prolifèrent, transformant la fourmi en un véritable "zombie".

D'autres champignons parasites de la cuticule des fourmis sont également connus. Par exemple, *Aegeritella rousillonensis* a été observée sur *Cataglyphis cursor* à Argelès-Plage, où ce champignon a été retrouvé sur les mêmes fourmis au même endroit. Une nouvelle espèce, *Rickia lenoirii*, a récemment été découverte sur des *Messor* en Grèce. En outre, *Beauveria* et *Metarhizium*, bien qu'ils ne soient pas des parasites spécialisés mais opportunistes, sont

fréquemment étudiés pour leurs effets sur les fourmis dans le cadre de la lutte biologique (Loreto et Hughes, 2016).

En Finlande, on estime que 60 % des *Formica fusca* sont tuées par *Beauveria bassiana*. Curieusement, les fourmis consomment spontanément du peroxyde d'hydrogène, une substance normalement toxique, ce qui les guérit et réduit la mortalité de 45 % (Bos Valle *et al.*, 2006) ; (Herzberg, 2015). De plus, les reines de *Formica selysi* montrent une préférence spontanée pour les sites contaminés par *Beauveria bassiana* et *Metarhizium brunneum* pour établir leur nid. Selon (Brütsch 2014), cela suggère soit une manipulation de l'hôte par les parasites, soit que la présence de ces champignons est un indicateur de la qualité du site sélectionné.

D'après les études menées par (Konrad Ertli *et al.*, 2012) ainsi que par (Abdun et Debroise 2012), les fourmis *Lasius neglectus* lèchent leurs congénères malades infectés par *Beauveria*, ce qui leur permet de capturer les parasites et de renforcer leurs réactions immunitaires. Alain Fraval suggère même l'existence d'une "prophylaxie sociale" lorsque les ouvrières de *L. neglectus* détectent les nymphes infectées par *Metarhizium brunneum* grâce à leurs signaux chimiques, ce qui survient pendant la période où le champignon n'est pas contagieux. Dans ce cas, le cocon est ouvert et traité avec de l'acide formique pour éliminer le champignon et désinfecter le corps (Pull *et al.*, 2018). Cependant, selon (Solá Gracia *et al.*, 2018), cette stratégie ne semble pas être une règle générale, car les ouvrières de *Camponotus castaneus* ne repèrent pas les individus infectés par un *Ophiocordyceps*.

### I-6-3-Rôle de microbiote des fourmis

La communauté microbienne est utilisée directement par les insectes pour décomposer les aliments complexes, s'adapter à des environnements à faible teneur en nutriments, se protéger contre les adversaires naturels et contrôler l'expression du comportement social. Les microorganismes liés aux fourmis jouent un rôle crucial dans la survie et la croissance des colonies : **nutrition et digestion** : Les microbes du système digestif contribuent à la dégradation de composés alimentaires complexes que les fourmis ne pourraient pas assimiler seules, ce qui améliore leur nourriture, **défense contre pathogènes**. : Les microbes présents sur la cuticule et dans l'intestin peuvent produire des substances antimicrobiennes, protégeant ainsi les fourmis contre les infections, **symbiose et comportement**, et pour **des applications biotechnologiques** Les stratégies de bio contrôle peuvent être inspirées par la compréhension

des microbes protecteurs des fourmis afin de lutter contre les ravageurs agricoles. Les microbes associés aux fourmis peuvent également produire des antibiotiques ou d'autres molécules bioactives d'intérêt pharmaceutique. La variété des microbes : Recherche de nouveaux microbes et analyse des interactions entre les microbes

Le microbiote bactérien cuticulaire des fourmis (Hymenoptera : Formicidae) est reconnu pour jouer un rôle défensif chez ces insectes sociaux, en particulier chez les fourmis attines (Formicidae : Attini), grâce à l'utilisation de molécules antimicrobiennes produites par des actinobactéries cuticulaires (C. Birer, 2017).

#### **I-6-4-Rôle des bactéries intestinal dans le développement normal de la cuticule chez les fourmis tortues herbivores**

Les intestins des insectes offrent des conditions particulières pour la colonisation microbienne, et les bactéries qui y vivent peuvent apporter de nombreux services à leurs hôtes. Il y a peu d'espèces microbiennes dans les intestins d'insectes par rapport aux intestins de mammifères, mais certains insectes possèdent de grandes communautés intestinales de bactéries spécialisées. Certains ne sont colonisés que de façon opportuniste et peuplés par des bactéries communes dans d'autres milieux.

Les tubes digestifs des insectes présentent une grande diversité en ce qui concerne leur morphologie et leurs caractéristiques physicochimiques, ce qui a un impact considérable sur la structure de la communauté microbienne. Le manque de voies de transmission fiables entre les individus hôtes est l'un des enjeux de l'évolution des associations intimes avec les micro-organismes intestinaux. Il n'y a pas d'exception ici pour les insectes sociaux, comme les termites, les fourmis et les abeilles : Les échanges sociaux permettent le transfert de bactéries intestinales, et certaines des communautés intestinales les plus distinctives et les plus cohérentes, avec des fonctions spécialisées en nutrition et en protection, ont été découvertes.

Chez les différentes espèces d'insectes sociaux. Cependant, il a été prouvé que les bactéries intestinales d'autres insectes jouent un rôle dans la nutrition, la protection contre les parasites et les agents pathogènes, la régulation des réponses immunitaires et la transmission des informations. Les responsabilités de ces rôles sont encore incertaines et nécessitent des recherches plus approfondies (Philippe *et al.*, 2013).

**I-6-5-Les bactéries intestinales sont essentielles au développement normal des cuticules chez les fourmis tortues herbivores**

Tout au long de l'histoire évolutive des insectes, la symbiose avec les microbes a permis le passage d'un régime carnivore/omnivore riche en azote à un régime herbivore azote faible. La composition nutritionnelle des fourmis tortues herbivores *Céphalotes* est enrichie grâce à un microbiome intestinal conservé, qui permet de recycler les déchets métaboliques riches en azote afin d'augmenter la production d'acides aminés. On suppose que cet enrichissement profite à l'hôte, mais on ne sait pas dans quelle mesure. Afin d'approfondir notre compréhension de l'assimilation de l'azote dans la cuticule de la fourmi, nous avons recours à différentes méthodes telles que la manipulation bactérienne intestinale, l'enrichissement isotopique en  $^{15}\text{N}$ , la spectrométrie de masse à rapport isotopique et la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire  $^{15}\text{N}$ . Nous avons démontré que les bactéries intestinales jouent un rôle dans la production de protéines, d'agents de réticulation des catécholamines et de chitine dans la cuticule. Les éléments de la cuticule enrichis en azote par les bactéries intestinales sont identifiés dans cette étude, ce qui souligne le rôle des symbiotes dans l'évolution des insectes. De plus, elle offre un cadre pour comprendre le flux d'azote des nutriments par les bactéries jusqu'à la cuticule de l'insecte. (Christophe *et al.*, 2021)

## **Chapitre II :**

### **Matériel et méthodes :**

## II- Matériel et méthodes

L'objectif principal de notre étude est la caractérisation de la microflore des fourmis et l'identification de celle-ci.

### A-1- Échantillonnage

Dans le cadre de notre étude un échantillonnage de fourmis provenant de différents sites au niveau de la wilaya de Bouira a été réalisé durant la période allant de 28 Avril 2024 au 21 Mai 2024 (**tableau 1**). Nous avons effectué nos essais au laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences, Université Akli Mohand Oulhadj Bouira.

Un bec électrique est installé sur le site de collecte afin de traiter les échantillons pour travailler dans une zone stérile.

**Tableau 1:** origine des échantillons

Echantillon	Origine	Nombre de fourmis pour chaque échantillon
001 CU 002 CU 003 CU 004 CU 005 CU	ERRICHE	7
006 CU 007 CU 008 CU 009 CU 010 CU	HAIZER	7
001 INT 002 INT 003 INT 004 INT 005INT	ERRICHE	2
006 INT 007 INT 008 INT 009 INT 010 INT	HAIZER	2

Les fourmis ont été collectées à l'aide d'une pince stérile (**figure4**) ensuite introduites dans des tubes stériles directement sur le terrain.



**Figure4** : Prélèvement des échantillons.

Six individus sont utilisés ensemble pour le lavage de la cuticule pour chaque échantillon, et un à deux individus sont conservés pour l'identification des espèces.

#### **A-1- 2-Identification des fourmis collectées**

Après la collecte des fourmis, les échantillons ont été analysés au laboratoire sous une loupe binoculaire.

L'identification a été assurée par Dr. Sahraoui à l'aide de clés d'identification de Bernard et Cagnait.

#### **A-2-1-Les Principaux caractères systématiques intervenants dans l'identification des Formicidae**

Afin d'identifier les espèces récoltées au cours de notre étude, 4 caractères systématiques ont été utilisées

### Le pétiole

C'est le premier caractère employé dans la détermination des fourmis. Il permet de distinguer entre les différentes sous familles.

### Les ailes

Les formicidae, formes sexuées, présentent deux paires d'ailes dont les ailes inférieures sont plus petites que les ailes supérieures. Elles sont reliées entre elles par une série de petits crochets appelés « Hamuli ». Les nervures alaires différentes d'une espèce à une autre.

### La tête

Chez les fourmis, la tête est aussi un organe utilisé dans la détermination des espèces (la forme de la tête, les antennes, les mandibules...).

### Le thorax

Le thorax chez les fourmis ouvrières est simple et se compose de trois parties principales qui sont le prothorax, le mésothorax et le métathorax alors que cette partie de l'insecte est un peu plus complexe chez les sexuées. Les trois parties du thorax se subdivisent en deux parties l'une est antérieure et l'autre postérieure. Ainsi, nous avons :

- le prothorax formé du pronotum en haut et du prosternum en bas.
- le mésothorax formé du mésonotum en haut et du mésosternum en bas.
- le métathorax formé du métanotum en haut et du métasternum

#### **B-2-1- Caractérisation du microbiote cuticulaire**

Pour faciliter la manipulation des fourmis, il est recommandé de les endormir à une température de -20°C pendant quelques minutes. Cette étape de stockage à basse température est importante pour maintenir la stabilité des échantillons

À l'aide de pince stérilisée, six fourmis de la même colonie sont introduites dans un tube contenant 4 ml d'une solution tampon, puis homogénéiser pendant 30 secondes au vortex pour favoriser le décollement mécanique des bactéries présentes sur la cuticule.

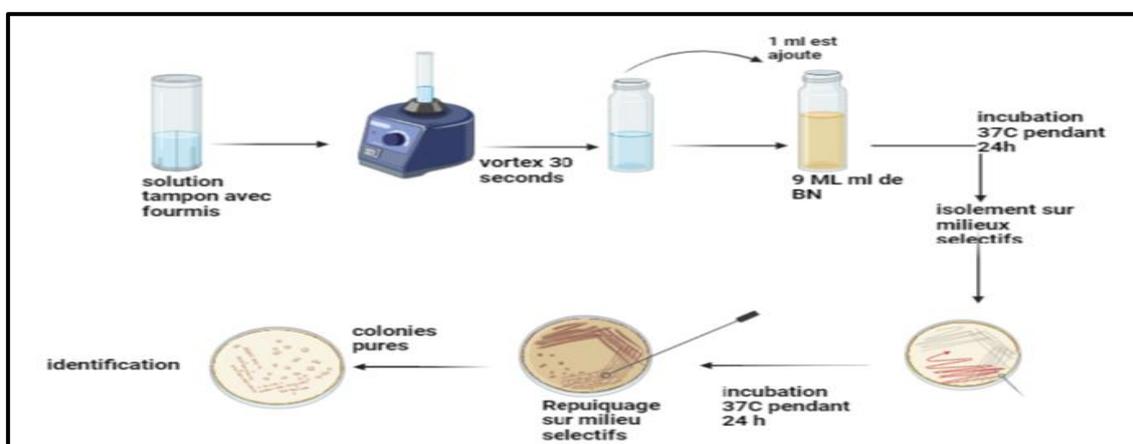
Ensuite, 1 ml de solution tampon a été ajouté à un tube à essai contenant 9 ml de BN, enfin l'incubation de ce dernier a 37°C pendant 24 h.

### B-2-1-2-Isolement et identification des souches

Après l'incubation des échantillons, nous avons procédé à l'isolement des microorganismes. Pour cela, environ 100 µL de chaque échantillon ont étéensemencés sur des géloses sélectives tels que le milieu MAC pour les bactéries à Gram négatif et le milieu Chapman pour les bactéries à Gram positif ainsi que le milieu MRS, après incubation de 24h à 37°C des repiquages successifs sur le même milieu a été faite pour l'obtention des colonies pures

Après avoir obtenu des colonies pures sur les milieux sélectifs, nous avons procédé à l'identification des souches qui était basée sur une observation macroscopique et microscopique suivi de l'emploi d'une galerie biochimique classique composé des milieux Citrate de Simmons, TSI et le milieu Mannitol-Mobilité ainsi que le test catalase

Le protocole expérimental a été répliqué de manière similaire sur des échantillons provenant des autres échantillons (001CU, 002CU...010CU) **Figure 5**



**Figure 5** : Schéma récapitulatif des étapes d'isolement à partir de cuticule de fourmis

## B-2-2- Caractérisation du microbiote intestinale

### B-2-2-1. Extraction de l'intestin de fourmis

La première étape consiste à l'extraction de l'intestin des fourmis.

Après l'échantillonnage des fourmis dans des tubes stériles, elles ont été placées au réfrigérateur à une température de 4°C pendant quelque minute.

Afin de mettre en évidence la biodiversité du microbiote intestinal des fourmis, nous avons procédé à l'extraction de l'intestin de l'insecte. La dessiccation des fourmis a été faite par Dr.Sahraoui dans des conditions d'asepsie **Figure 6**.

Une fois l'intestin est récupéré il est directement mis dans un tube stérile contenant 9ml de BN puis broyé à l'aide d'une tige stérile.

L'échantillon° obtenu a ensuite incubé à 37°C pendant 24h



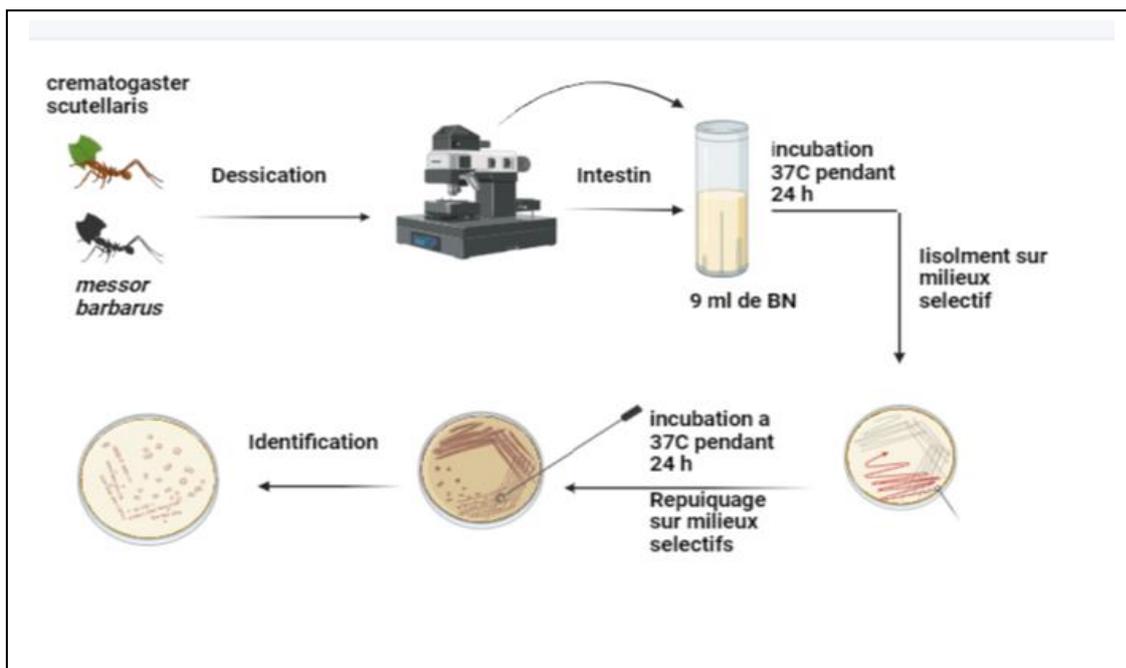
**Figure 6 :** Extraction de l'intestin de fourmis



**Figure 7 :** appareil digestif de fourmi sous la loupe (photo originale)

### B-2-2-2 Isolement et identification des souches :

Après l'incubation, nous avons procédé à l'isolement et identification des souches comme illustré dans la **figure 8**.



**Figure 8 :** Schéma récapitulatif des étapes d'isolement à partir des intestins de fourmis

Les colonies présumées ont été identifiées en se basant sur une observation macroscopique permettant d'observer la couleur, la taille et l'aspect des colonies et microscopique (coloration de Gram et l'état frais pour étudier la mobilité et la morphologie

des bactéries) suivie de l'emploi d'une galerie biochimique classique composée des milieux Citrate de Simmons, TSI, test catalase, et milieu Mannitol-mobilité.

### **B-3-- Conservation**

Après avoir confirmé la pureté des boîtes, une colonie de chaque boîte purifiée a été repiquée avec une pipette Pasteur et placée dans un tube Eppendorf contenant 1 ml de 70°de BN et 30° de glycérine. Les tubes ont ensuite été soigneusement vortexés avec un vortex et stocker à court terme à 4 ° C pour une utilisation ultérieure.

# **CHAPITRE : III**

## **Résultats et discussions**

### III-1- Identification des fourmis

L'étude systématique basant sur l'observation microscopique des caractères morphologiques (pétiole, tête, thorax, ailes...) nous a permis d'identifier deux espèces de fourmis dans notre étude ; à savoir : *Messor barbarus* et *Crematogaster scutellaris*

#### A - *Messor barbarus*



**Figure 9 :** *Messor barbarus* sous la loupe (photo original).

**Tableau 2 :** Taxonomie de *Messor barbarus* :(Martinez, R. 2007))

<b>Règne :</b> Animalia	<b>Sous-règne :</b> Eumetazoa
<b>Embranchement :</b> Arthropoda	<b>Sous-embranchement :</b> Hexapoda
<b>Classe :</b> Insecta	<b>Ordre :</b> Hymenoptera
<b>Superfamille :</b> Formicoidea	<b>Famille :</b> Formicidae
<b>Sous-famille :</b> Myrmicinae	<b>Tribu :</b> Myrmicini
<b>Genre :</b> Messor	<b>Espèce :</b> <i>Messor barbarus</i>

**B -Crematogaster scutellaris**

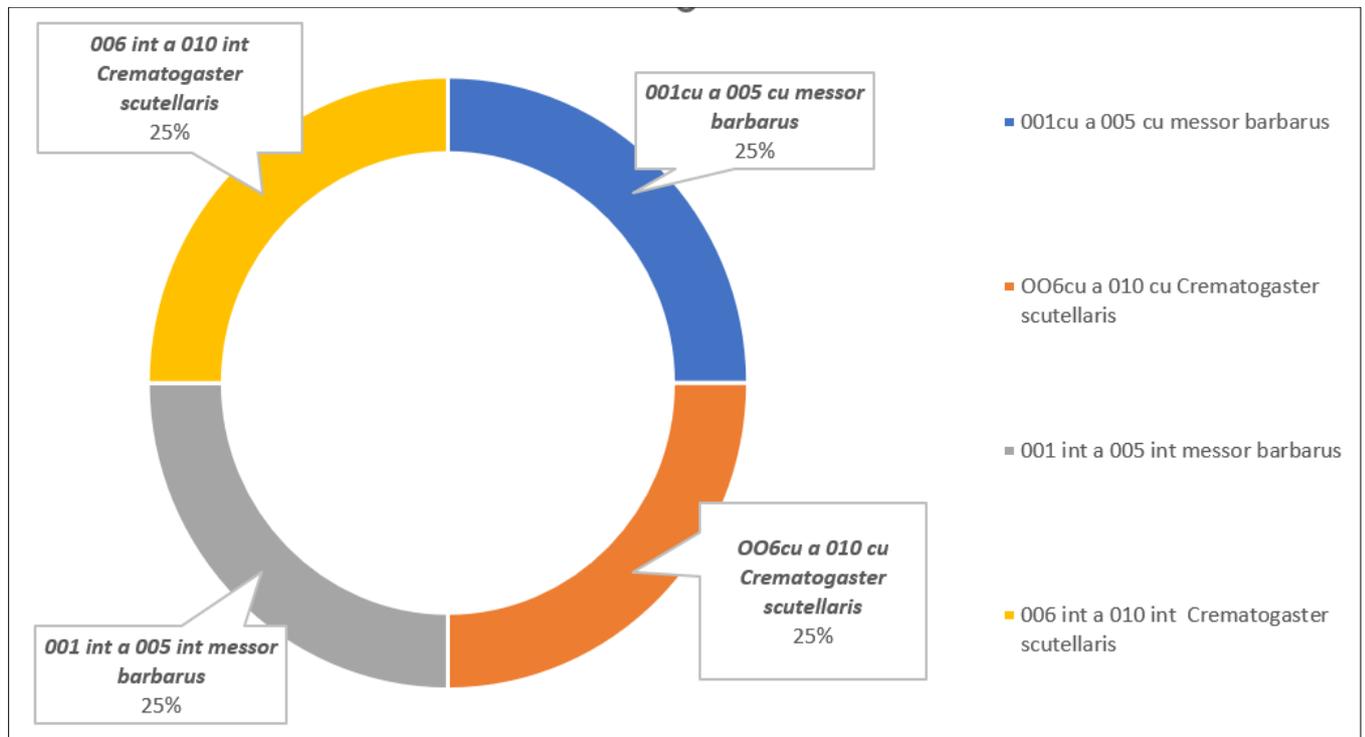
**Figure 10 :** *Crematogaster scutellaris* sous la loupe (photo original).

**Tableau 3 :** Taxonomie de *Crematogaster scutellaris*

Règne : Animalia	<b>Sous-règne :</b> Eumetazoa
Embranchement : Arthropoda	<b>Sous-embranchement :</b> Hexapoda
<b>Classe :</b> Insecta	<b>Ordre :</b> Hymenoptera
<b>Superfamille :</b> Formicoidea	<b>Famille :</b> Formicidae
<b>Sous-famille :</b> Myrmicinae	<b>Tribu :</b> Crematogastrini
<b>Genre :</b> Crematogaster	<b>Espèce :</b> <i>Crematogaster scutellaris</i>

### III-2-Résultat d'identification des échantillons étudié

Les résultats d'identification des fourmis sont présentés dans la figure 11



**Figure 11** : Résultat d'identification des échantillons étudié.

### III-3- Évaluation phénotypique et caractérisation de la diversité bactérienne

Dans cette étude, nous avons utilisé 10 échantillons de fourmis pour la cuticule et 10 échantillons pour l'intestin, correspondant à 10 tubes digestifs.

Nous avons ensuite procédé à l'isolement sur des milieux spécifiques permettant la croissance et l'identification de certains types de bactéries, qui sont ensuite purifiées sur les mêmes milieux spécifiques appropriés.

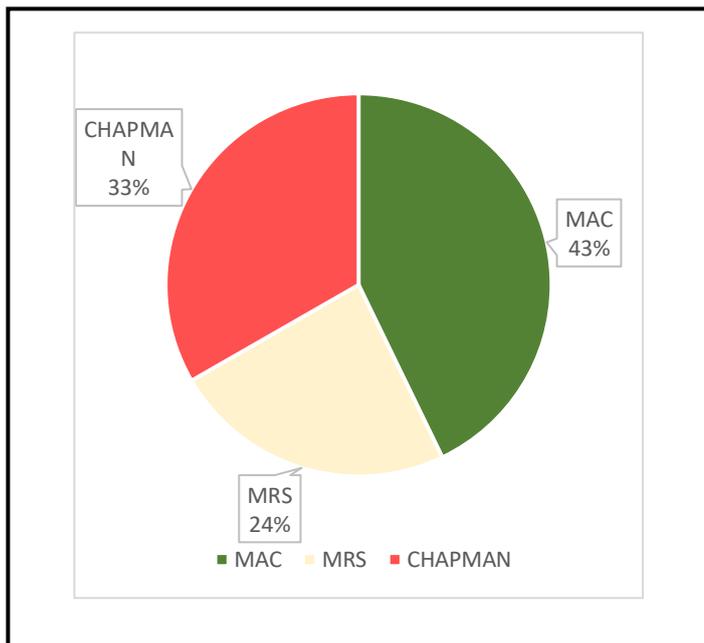
Enfin, nous avons soumis les isolats obtenus à des tests de caractérisation phénotypique, notamment une coloration de Gram, des tests de catalase pour évaluer la présence de l'enzyme catalase et des tests Mannitol mobilité, des tests TSI et des tests citrate de Simmons.

Les résultats obtenus sont représentés dans l'annexe 5 et 6

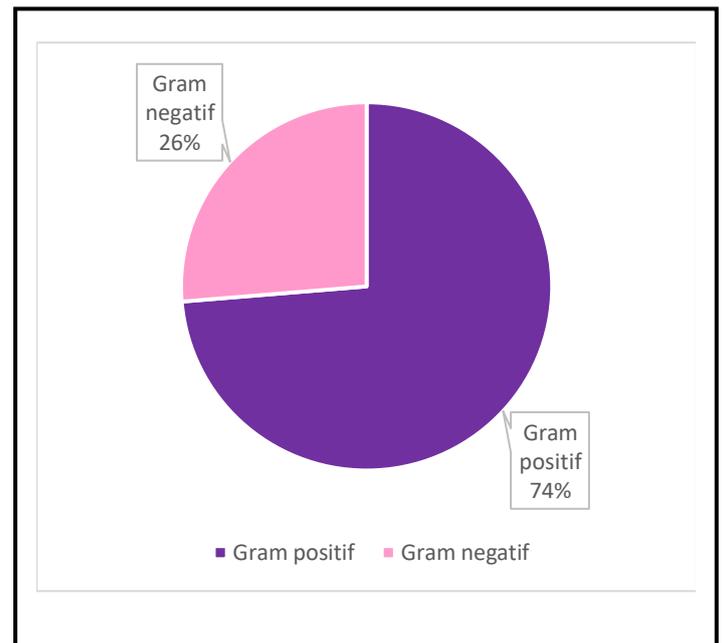
## Souches bactériennes

## III-3- 1- Cuticules des fourmis

Les résultats ont révélé la présence de 19 souches bactériennes dont 14 bactéries sont Gram positif et 5 bactéries à Gram négatif sur 10 échantillons figure 13, ces souches ont été isolées sur plusieurs milieux sélectifs figure 12, à mentionner l'absence de croissance bactérienne dans quelques échantillons (Annexe 5).



**Figure 12 :** : taux des souches bactériennes des cuticules de fourmis sur chaque milieu de culture MAC CONKEY, CHAPMAN, MRS



**Figure 13:** Pourcentage des souches à Gram positif et Gram-négatif dans des cuticules de fourmis

D'abord en ce qui concerne les échantillons de *Messor barbarus*, on a isolé cinq souches bactériennes à partir des cuticules de ces fourmis

Trois souches ont montré une croissance sur le milieu sélectif Chapman après une incubation de 24h à 37°C, formant des petites colonies blanchâtres. La coloration de Gram a révélé qu'ils s'agissaient des bactéries à Gram positif, prenant la forme de bacilles. Ces souches ont également causé un virage de couleur du milieu Chapman après incubation de 24h à 37°C. Sur la base des résultats de la galerie biochimique minimale, probablement, il s'agissait des souches appartenant au genre *Bacillus*

Une souche, quant à elle, a montré une croissance sur le milieu sélectif Mac conkey après une incubation de 24h à 37°C, donnant des colonies de taille moyenne à grandes

muqueuses avec une légère teinte. La coloration de Gram a montré qu'il s'agissait d'une bactérie à Gram négatif de forme bacille, et sur la base des résultats de la galerie biochimique nous avons suspecté que c'est une souche appartenant au genre *pseudomonas*

Une souche a montré une croissance sur le milieu Chapman après une incubation à 37 °C pendant 24 heures, formant de petites colonies de couleur jaunâtre brillante avec un contour régulier. La coloration de Gram a révélé qu'il s'agissait de bactéries à Gram positif, prenant la forme de coques. De plus, cette souche a montré une croissance sur le milieu Chapman, avec un changement de couleur du milieu vers le jaune. Sur la base de ces caractéristiques et les résultats de sa galerie biochimique (tableau4), nous avons suspecté qu'il s'agissait de souche appartenant au genre *Staphylococcus aureus*.

Une souche a montré une croissance sur le milieu de culture Mac Conkey après une incubation à 37 °C pendant 24 heures, formant de petites colonies circulaire avec des bord bien réguliers et lisses de couleur rose a rouge. La coloration de Gram a révélé qu'il s'agissait de bactéries à Gram négatif, prenant la forme de petits bâtonnets. Selon ces caractéristiques et les résultats des galeries biochimiques (Annexe 5) nous avons émis l'hypothèse qu'il s'agissait de souche d'*Escherichia coli*.

Une souche a montré une croissance sur le milieu MRS après une incubation à 37 °C pendant 24 heures, formant des petites colonies blanchâtre rondes, convexes et lisses. la coloration de Gram a révélé qu'il s'agissait de bactérie à Gram positif, prenants la forme de bâtonnet Selon ces caractéristiques et les résultats des galeries biochimiques (Annexe 5) nous avons formulé l'hypothèse qu'il s'agissait de souche *lactobacillus*

Deux souches ont montré une croissance sur le milieu MAC après une incubation à 37 °C pendant 24 heures, formant des petites colonies rondes, lisses et convexes. la coloration de Gram a révélé qu'il s'agissait de bactérie à Gram positif, prenants la forme de coque. Selon ces caractéristiques et les résultats des galeries biochimiques (tableau 4) Nous avons formulé l'hypothèse qu'ils s'agissaient de souches *enterococcus* du groupe D

Pour les souches bactériennes des cuticules des fourmis *Crematogaster scutellaris* on a isolé 8 souches dont 4 souches bactériennes sont à Gram positif et 3 souches à Gram négatif

Quatre souches ont montré une croissance sur le milieu Chapman après une incubation à 37 °C pendant 24 heures, formant des colonies de petite taille de couleur

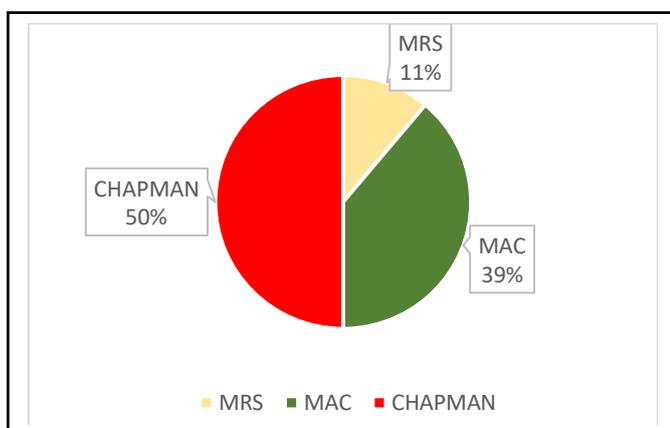
crémeuse avec un contour régulier. La coloration de Gram a révélé qu'ils s'agissaient des bactéries à Gram positif, en forme de coques. De plus, ces souches ont montré une croissance sur le milieu Chapman, avec un changement de couleur du milieu vers le jaune. Sur la base de ces caractéristiques et les résultats de leur galerie biochimique (Annexe 5), on a suspecté qu'ils s'agissaient des souches appartenant au genre **Staphylococcus aureus**.

Trois souches ont montré une croissance sur le milieu de culture Mac Conkey après une incubation à 37 °C pendant 24 heures, formant des petites colonies circulaires avec des bord bien réguliers et lisses de couleur rose a rouge. La coloration de Gram a révélé qu'ils s'agissaient de bactéries à Gram négatif, prenant la forme de petits bâtonnets. Selon ces caractéristiques et les résultats de leurs galeries biochimiques (Annexe 5) nous avons émis l'hypothèse qu'il s'agissait de souches *d'Escherichia coli*.

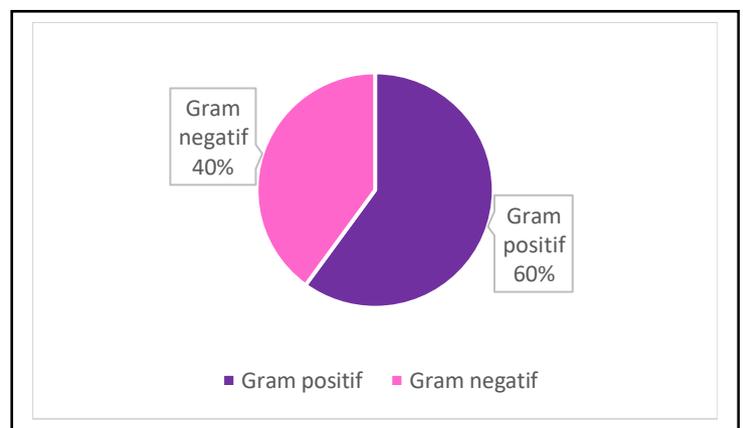
Trois souches ont montré une croissance sur le milieu de culture Mrs après une incubation de 24h à 37°C, formant des petites colonies avec des bords réguliers de couleur blanchâtre a gris. La coloration de Gram a montré qu'il s'agit d'une bactérie Gram positif de forme coque Selon ces caractéristiques et les résultats de leurs galeries biochimiques (Annexe 5) nous avons émis l'hypothèse qu'il s'agissait de souche appartenant au genre *Entérocooccus*

### III-3- 2- Intestins des fourmis

Les résultats ont révélé la présence de 15 souches bactériennes dont 9 bactéries sont Gram positif et 6 bactéries a Gram négatif sur 10 échantillons figure 15, ces souches ont été isolé sur plusieurs milieux sélectifs F, à mentionner l'absence de croissance bactérienne dans quelques échantillons (Annexe 6)



**Figure14** : taux des souches bactérienne des intestins de fourmis sur chaque milieu de culture MAC CONKEY, CHAPMAN, MRS



**Figure15** : Pourcentage des souches à Gram -positif et Gram- négatif dans des intestins de fourmis

Quant aux souches isolées des intestins de fourmis *Messor barbarus* on a isolé 7 souches bactériennes

Trois souches ont montré une croissance sur le milieu Chapman après une incubation à 37 °C pendant 24 heures, formant des colonies de petite taille, de couleur crémeuse avec un contour régulier. La coloration de Gram a révélé qu'ils s'agissaient des bactéries à Gram positif, en forme de coques avec un changement de couleur du milieu vers le jaune. Sur la base de ces caractéristiques et les résultats de leur galerie biochimique (Annexe 6), on a suspecté qu'ils s'agissaient des souches appartenant au genre *Staphylococcus aureus*.

Deux souches ont montré une croissance sur le milieu Chapman après une incubation à 37°C pendant 24 heures, formant des colonies qui sont généralement blanches à grisâtres, rondes, lisses, convexes. La coloration de Gram a révélé qu'il s'agissait des bactéries à Gram positif, en forme de coques et sans changement de couleur du milieu vers le jaune. Sur la base de ces caractéristiques et les résultats de leur galerie biochimique (Annexe 6), on a suspecté qu'ils s'agissaient des souches appartenant au genre *Staphylococcus epidermidis*.

Une souche a montré une croissance sur le milieu sélectif Mac conkey, après une incubation de 24h à 37°C, formant des grandes colonies circulaires avec des bords réguliers, lisses, de couleur rose à rouge foncé. La coloration de Gram a révélé que la souche est Gram négatif de forme bacille. Sur la base de ces caractéristiques et les résultats de la galerie biochimique (tableau5), on a suspecté qu'il s'agissait de souche appartenant au genre *Klebsella*

Une souche a montré une croissance sur le milieu de culture Mac Conkey après une incubation à 37 °C pendant 24 heures, formant des petites colonies circulaires avec des bord bien réguliers et lisses de couleur rose à rouge. La coloration de Gram a révélé qu'il s'agissait de bactérie à Gram négatif, prenant la forme de petit bâtonnet. Selon ces caractéristiques et les résultats de leurs galeries biochimiques (Annexe 6) nous avons émis l'hypothèse qu'il s'agissait de souche *d'Escherichia coli*.

Pour les souches isolées des intestins de fourmis *Crematogaster scutellaris* on a isolé 10 souches bactériennes

Quatre souches ont montré une croissance sur le milieu de culture Mac Conkey après une incubation à 37 °C pendant 24 heures, formant des petites colonies circulaires avec des bord bien réguliers et lisses de couleur rose a rouge. La coloration de Gram a révélé qu'ils s'agissaient de bactéries à Gram négatif, prenant la forme de petits bâtonnets. Selon ces caractéristiques et les résultats de leurs galeries biochimiques (Annexe 6) nous avons émis l'hypothèse qu'il s'agissait de souches *d'Escherichia coli*.

Quatre souches ont montré une croissance sur le milieu Chapman après une incubation à 37 °C pendant 24 heures, formant des colonies de petite taille, de couleur crémeuse avec un contour régulier. La coloration de Gram a révélé qu'ils s'agissaient des bactéries à Gram positif, en forme de coques. Ces souches ont montré une croissance sur le milieu Chapman, avec un changement de couleur du milieu vers le jaune. Sur la base de ces caractéristiques et les résultats de leur galerie biochimique (Annexe 6), on a suspecté qu'ils s'agissaient des souches appartenant au genre *Staphylococcus aureus*.

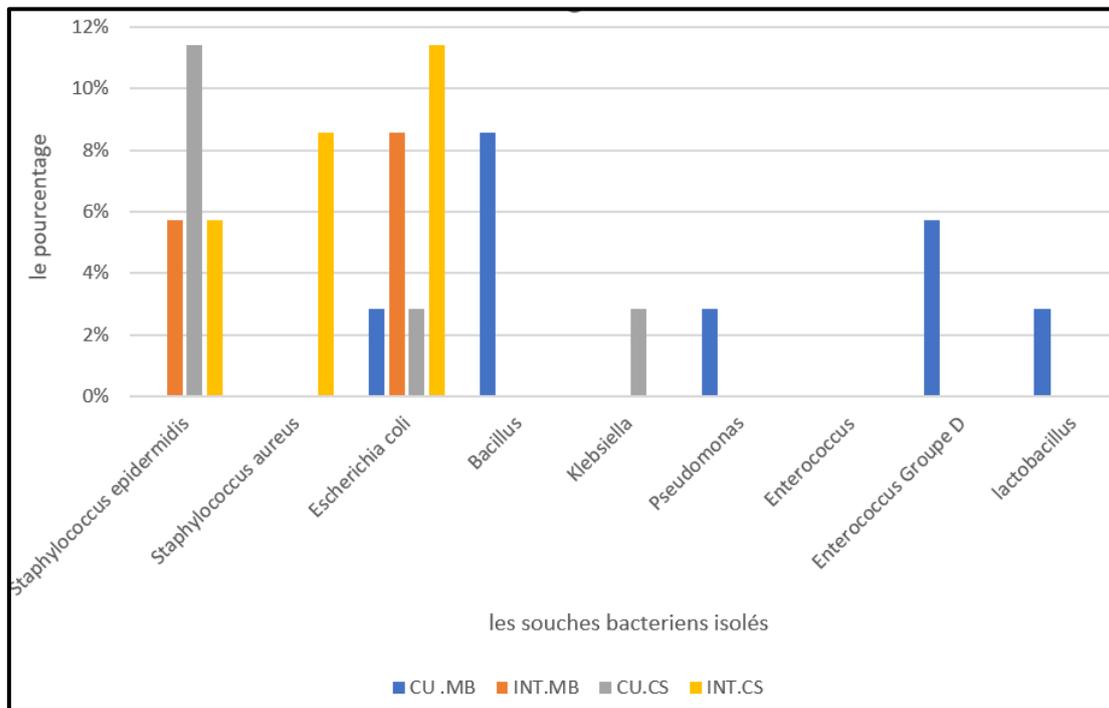


Figure 16 : Les résultats d'identification.

### III-4- DISSCUSSION DES RESULTAS

L'étude du microbiote des fourmis offre une fenêtre unique sur les interactions symbiotiques, les mécanismes de défense, les relations écologiques et évolutives, et les applications potentielles en biotechnologie et agriculture. Cette recherche peut non seulement enrichir notre compréhension fondamentale de la biologie des insectes, mais aussi conduire à des innovations pratiques dans divers domaines.

Cette étude offre une importance considérable car elle vise à combler une lacune de connaissances concernant la caractérisation microbiologique de *Messor barbarus* et *Crematogaster scutellaris*. Les résultats obtenus fourniront une compréhension de la microflore de ces insectes, contribuant ainsi à l'avancement de notre compréhension dans cet axe de recherche

Nos résultats ont révélé une diversité microbienne significative au sein de chaque échantillon étudié.

En ce qui concerne les échantillons de la cuticule des fourmis nous avons pu isoler probablement des bactéries des genres courants tels que staphylococcus et des bacilles a Gram positif et ces résultats correspondent à ceux trouvés dans la littérature pour des échantillons de fourmis étudiées par (Rodvalho,c *et al.*,2007) . Aussi, nous avons suspecté la présence de bactéries appartenant au genre Enterobacter : E.coli et Klebsiella dans la cuticule des fourmis bien confirmé par (Ramalho *et al.*, 2017) . Selon Rodovlho,c Une enquête sur les bactéries présentes chez les fourmis et dans leur environnement a révélé que certaines fourmis hébergeaient des bactéries non isolées dans l'environnement environnant

La proximité entre individus, l'environnement riche en microorganismes et l'introduction d'éléments étrangers tels que proies et feuilles dans la fourmilière posent des risques infectieux pour la colonie. Malgré cela, la diversité et l'abondance des espèces de fourmis suggèrent que leurs stratégies de défense contre les pathogènes sont hautement efficaces. Ce succès repose principalement sur leur système immunitaire performant, qui maintient l'intégrité de la colonie. (Hughes, 2011) ; ces insectes sociaux utilisent des mécanismes d'hygiène tels que la gestion des déchets et les rituels de lavage ou de léchage entre individus pour maintenir leur propreté. De plus, elles établissent des associations avec

des micro-organismes présents sur leur cuticule dans un but défensif. Donc, la cuticule des fourmis joue un double rôle : elle constitue une barrière physique contre l'intrusion de micro-organismes dans leur système circulatoire et elle offre un environnement propice à la colonisation par de nombreux micro-organismes bénéfiques. (Douglas, 2015).

Pour L'analyse du microbiote intestinal a révélé une diversité bactérienne significative chez les échantillons étudiés. Les principales phyla identifiés incluent les Firmicutes, les Proteobacteria, ce qui est cohérent avec les profils microbiens observés dans d'autres études similaires sur des insectes. La diversité a, mesurée par les indices de Shannon et Simpson, a montré une variabilité interindividuelle importante. Cette variabilité pourrait être attribuée à des facteurs intrinsèques tels que la génétique de l'hôte, le régime alimentaire, et les conditions de santé. Les Firmicutes étaient le phyla dominants, représentant respectivement environ 66% de la communauté microbienne totale. Cette dominance des Firmicutes est courante dans les microbiomes intestinaux sains et est associée à des fonctions métaboliques essentielles, telles que la fermentation des polysaccharides complexes en acides gras à chaîne courte (Haro *et al.*, 2016)

Les analyses fonctionnelles prédites par PICRUST ont suggéré que les bactéries identifiées jouent des rôles clés dans la fermentation des glucides, la biosynthèse des vitamines et le métabolisme des acides biliaires.

La présence de Firmicutes peut contribuer à la santé intestinale en renforçant la barrière intestinale, modulant le système immunitaire et inhibant la croissance des pathogènes grâce à la production de substances antimicrobienne. En somme, la dominance des Firmicutes dans les intestins des insectes indique une adaptation écologique et fonctionnelle clé, soutenant la digestion, la santé intestinale et les interactions symbiotiques qui sont essentielles pour la survie et la prospérité des insectes dans divers environnements. (Jing TZ, et al., 2020)

## **Conclusion**

## Conclusion :

---

En conclusion, cette étude a permis d'identifier et de caractériser le microbiote cuticulaire et intestinal des fourmis vivantes de deux sites de la wilaya de Bouira. Les résultats montrent probablement une diversité microbiologique significative tant sur la surface externe des fourmis que dans leurs intestins. Le microbiote cuticulaire est principalement composé de microorganismes adaptés à la surface externe, probablement influencés par l'environnement immédiat et les interactions sociales au sein de la colonie. En revanche, le microbiote intestinal révèle une communauté bactérienne distincte, probablement influencée par les fonctions digestives et immunitaires des fourmis.

Ces résultats suggèrent des interactions complexes entre les fourmis et leur microbiote, avec des implications potentielles pour la santé et le comportement des colonies. De plus, cette étude contribue à une meilleure compréhension de l'écologie microbienne des insectes sociaux et de l'importance des microorganismes dans leur biologie.

Cette étude présente certaines limitations, telles que l'échantillonnage limité et l'absence de données longitudinales. Des études futures devraient inclure des analyses métagénomiques complètes et des essais fonctionnels pour mieux comprendre les rôles des bactéries identifiées

En outre, l'identification des microorganismes présents dans le microbiote des fourmis ouvre la voie à de futures recherches sur les rôles fonctionnels spécifiques des différentes espèces bactériennes identifiées. Ces études pourraient également explorer les mécanismes de transmission du microbiote au sein de la colonie, ainsi que son influence sur la réponse immunitaire des fourmis face aux pathogènes. Des analyses métagénomiques complètes et des essais fonctionnels pour mieux comprendre les rôles des bactéries identifiées

## **Références bibliographiques**

- **ABDUN et DEBROISE** 2012- Study of biochemical pathway and enzyme involved in metsulfuron-methyl degradation by *Ancylobacter* sp. XJ-412-1 isolated from soil. *Curr. Microbiol.* 62, 1718–1725
- **AIRA M., PIEARCE T.G.**, 2009- The earthworm *Lumbricus terrestris* favours the establishment of *Lolium perenne* over *Agrostis capillaris* seedlings through seed consumption and burial. *Applied Soil Ecology*, 41(3), 360-363
- **AIT MOULOUD S.**, 2011. Biodiversité et distribution des collemboles dans l'écotone eau sol forestier dans la mare d'aghribs et dans la tourbière d'Et Kala. Thèse de magister. UMMTO. 115p
- **ALVAREZ G., CHAUSSOD R., CLUSEAU D., GODDEN B., LEMARIE CH., METZGER L., NICOLARDOT B., PARAT J. ET SALDUCCI X.**, 2002. Activités Biologiques et fertilité des sols : intérêts et limites de méthodes analytiques disponibles. ITAB. Paris. 27p.
- **ANDRE RODRIGUEZ, URICH G. MUELLER, HEATHER D. ISHAK, MAURCCIO BACCI, Jr, FERNANDO C. PAGNOCCA**, (2011), Ecology of microfungus communities in gardens of fungus-growing ants (*Hymenoptera: Formicidae*): a year-long survey of three species of attine ants in Central Texas
- **ARDITI R., MICHALSKI J., HIRZEL A.H.**, 2005- Rheagologies: Modelling non-trophic effects in foodwebs. *Ecological Complexity*, 2(3), 249-258.
- **BARDGETTE R.D., CHAN K.F.**, 1999- Experimental evidence that soil fauna enhance nutrient mineralization and plant nutrient uptake in montane grassland ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry*, 31(7), 1007-1014.
- **BATHORI N ADAMCYEWSKI A., PRACZYK T., PARADAWSKI A.**, 2015 – Ocena nowych herbicydów zgru p-sulfonyl omocznii kowej. *Materiały 28. Sesji Nauk. Inst. Ochr. Roślin*, cz. 2: 299–304.
- **BIRER, C.** (2017) Le microbiote bactérien cuticulaire des fourmis de Guyane : pouvoir antibiotique et écologie des communautés.
- **BOS D**, 2012- Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses : caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin. Thèse de doctorant. Université de Toulouse (France). P.4.
- **BOS VALLE, A., BOSCHIN, G., NEGRI, M., ABBRUSCATO, P., SORLINI, C., D'AGOSTINA, A., and ZANARDINI, E.**, 2006 -The microbial degradation of

- azimsulfuron and its effect on the soilbacterial community. *J. Appl. Microbiol.* 101, 443–452
- **BOT, A. N. M., M. L. OBERMAYER, B. HOLLDOBLER, and J. J. BOOMSMA.** 2001- Functional morphology of the metapleural gland in the leaf-cutting ant *Acromyrmex octospinosus*. *Insectes Sociaux* 48:63-66.
  - **BROWN G., PASSINI A., BENITO N P., DE AQUINO ET CORREIRA M.,** 2002. Diversity and functional role of soil macrofauna communities in brasilian no-tillage agroecosystems: a preliminary analysis. Paper based on an oral presentation at the international symposium on managing biodiversity in agricultural ecosystems ".Montréal, Canada 8-10 November 2001. 8p.
  - **BRUTSCH,** 2014- Study ofbiochemical pathway and enzyme involved in metsulfuronmethyl degradation by *Ancylobacter* sp. XJ-412-1 isolated from soil. *Curr. Microbiol.* 62, 1718– 1725. [
  - **CARMEN HARO , SONIA GARCIA-CARPINTERO , JUAN F ALCALA-DIAZ , FRANCISCO GOMEZ-DELGADO , JAVIER DELGADO-LISTA , PABLO PEREZ-MARTINEZ , ORIOL A RANGEL ZUNIGA , GRACIA M QUINTANA-NAVARRO , BLANCA B LANDA , JOSE C CLEMENTE · JOSE LOPEZ-MIRANDA , ANTONIO CAMARGO , FRANSOSCO PEREZ-JIMENEZ ;** (2016), The gut microbial community in metabolic syndrome patients is modified by diet
  - **CAROLINE DEMENGEL, TIMOTHY P. STINEAR , STEWART T. COLE ,** (2009), Buruli ulcer: reductive evolution enhances pathogenicity of *Mycobacterium ulcerans*
  - **CATHERINE PHILIPPE, FRANCINE WALKER, ANDRE BADO, et al.** (2013), Intestinal microbiota determines development of non-alcoholic fatty liver disease in mice
  - **DAVET P.,** 1996. La vie microbienne du sol et production végétale. Ed. INRA. 380p.
  - **DEPRINCE A.,** 2003. La faune du sol, diversité, méthode d'étude, fonctions et perspectives – le courrier de l'environnement de l'INRA n 49, pp 123-138
  - **DORIS VANDEPUTTE, GUNTER KATHAGAN, KEVIN D'HOE ; SARA VIERA-S, ILVA MIREIA VALLES-COLOMER, JOAO SABINO, JUN WANG, RAUL Y. TITO, LINDSEY De COMMER, YOUSSEF DARZIL, SEVIRINE VERMEIRE 4, GWEN FALONY & JEROEN RAES,**(2017), Quantitative microbiome profiling links gut community variation to microbial load

- **DOUGLAS**, 2015 -Microbiologie Technique. Tome 1 Dictionnaire des techniques. Académie de bordeaux et crdp d'Aquitaine, 171-189.
- **ESPADALER R et SANTAMARIA M.**, 2012- Modélisation stochastique du transfert des pesticides dans les sols et les eaux souterraines. Application à la vulnérabilité des puits. Thèse (docteur d'INRSEau du Québec). Chapitre 3 (25-26).
- **F. M. AZCÁRATE, L. ARQUEROS, A. M. SÁNCHEZ, B. PECO**, 2005, Seed and fruit selection by harvester ants, *Messor barbarus*, in Mediterranean grassland and scrubland
- **FARRELL, B. D., A. S. SEQUEIRA, B. C. O'MEARA, B. B. NORMARK, J. H. CHUNG, and B. H. JORDAL. AANEN, D. K., P. EGGELETON, C. ROULAND-LEFEVRE, T. GULDBERG-FROSLEV, S. ROSENDHAL, and J. J. BOOMSMA.**, 2002- The evolution of fungus-growing termites and their mutualistic fungal symbionts. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99:14887-14892. 2001. The evolution of agriculture in beetles (Curculionidae: Scolytinae and Platypodinae). *Evolution* 55:2011-2027
- **FREYSSINEL R.**, 2007.étude de la diversité de la pédofaune dans les systèmes agroforestiers, programme CASDAR agroforesterie 2006-2008, recherche et développement de la France,46p.
- **GIRARD JM., WALTER C., REMY JC., BERTHELINJ ET MOREL JL.**, 2005. Sol et environnement, édition Campus DUNOD, Paris, 816 p.
- **GOBAT J .M, ARAGNO M. ET MATTY W**, 2010. Le sol vivant. 3ème édition. Revue et augmenté.150-165
- **HENRI CAGNIANT**, 2005, Les Crematogaster du Maroc (Hym., Formicidae). Clé de détermination et commentaires
- **HERZBERG**, 2015 -Organophosphore utilization by the wild-type strain of *Pseudomonas fluorescens*.*Appl Environ* 58 :2993-2999.
- **HUGHES**, 2011- Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses : caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin. Thèse de doctorant. Université de Toulouse (France).P.4.
- **JING TZ ,et al** ,(2020),Most dominant roles of insect gut bacteria: digestion, detoxification, or essential nutrient provision
- **JOFFIN et LEYRAL**, 2001 - Biodégradation des herbicides en sols tempérés – Contrôle des communautés bactériennes dégradantes par la bioturbation du sol thèse

présentée devant l'université de rennes 1 pour obtenir le grade de docteur de l'université de rennes 1 Chabasse

- **KATRIN KELLNER, HEATHER D. ISHAK, TIMOTHEY A. LINKSVAYER, ULRICH G. MUELLER**, (2015), Bacterial community composition and diversity in an ancestral ant fungus symbiosis
- **KONRAD ERTL.T., A. MART, R. FOLDENYIL**, 2012-. Effect of pH and the role of organic matter in the adsorption of isoproturon on soils. *Chemosphere*, 57 :771-779.
- **LAVELLE P, DECAËNSB T, AUBERTB M, BAROTA S, BLOUINA M, BUREAUB F, MARGERIEB P, MORAA P, ROSSIC J-P**, 2006. Soil invertebrates and ecosystem services. *European Journal of Soil Biology*42.13p.
- **LAVELLE P., BLOUN M., CADET P., LAFFRAY D., PHAM THI A., SETTLE W H., et ZUILY Y.**,2003. Diversité de la faune du sol et contrôle des ennemis des cultures. Ed. Académie des sciences
- **LINDSTROM et al.** (2021), A Longitudinal Study of the Human Oropharynx Microbiota Over Time Reveals a Common Core and Significant Variations with Self-Reported Disease
- **LITTELE, A. E. F., T. MURAKAMI U. G. MUELLER, and C. R. CURRIE.**, 2006- Defending against parasites: fungus-growing ants combine specialized behaviours and microbial symbionts to protect their fungus gardens. *Biology Letters* 2:12-16
- **LORETO et HUGHES**, 2016- Fungal degradation of an acetolactate synthase (ALS) inhibitor pyrazosulfuron-ethyl in soil. *Chemosphere*.In print.
- **MANUELA OLIVIERA RAMALHO, CORRIE SAUX MOREAU, ODAIR CORREA BUENO**,(2019) , The Potential Role of Environment in Structuring the Microbiota of *Camponotus* across Parts of the Body
- **MARTINEZ, R.** (2007). Fourmi moissonneuse Messor barbarus, biologie et soins
- Maxime K, 2018 comment fonctionne l'organisation social des fourmis ?
- **MENDONCA, A. D., C. E. DA SILVA, F. L. T. de MESQUITA, R. D. CAMPOS, R. R. Do NASCIMENTO, E. XIMENCE, and A. E. G. SANT'ANA.**, 2009- Antimicrobial activities of components of the glandular secretions of leaf cutting ants of the genus *Atta*. *Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology* 95:295-303
- **MUELLER, U. G., N. M. GERARDO, D. K. AANEN, D. L. SIX, and T. R. SCHULTY.** 2005 - The evolution of agriculture in insects. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 36:563-595

- **MUELLER, U. G., T. R. SCHULTY, C. R. CURRIE, R. M. M. ADAMS, and D. MALLOCH.,** 2001- The origin of the attine ant-fungus mutualism. *Quarterly Review of Biology* 76:169-197.
- **PASCALE FLURY, NORA AELLEN, BEAT RUFFINER, MARIA PECHY-TARR, SHAKIRA FATAAR, ZANE METLA, ANA DOMINGUEZ-FERRARAS, GUIDO BLOEMBERG, JOACHIM FREY, ALEXANDER GOESMMAN, JOS M RAAJIMAKERS, BRION DUFFEY, MONICA HOFTE, JOCHEN BLOM THEO H M SMITS, CHRISTOPHE KEEL, MONIKA MAURHOFER ,(2016),** Insect pathogenicity in plant-beneficial pseudomonads: phylogenetic distribution and comparative genomics
- **PAUL G. FALKOUSKI, et al.** (2008), *The Microbial Engines That Drive Earth's Biogeochemical Cycles.*
- **PZNNISI,** 2014-Recent advances in sulfonylurea herbicides in: *Chemistry of Plant Protection, Herbicides inhibiting Branched-Chain Amino Acid Biosynthesis – Recent Developments.* J. Stetter (ed.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 10: 48.
- **PULL A, ZAMY, C., MAYELLIER, P., LEGUBEB,** 2018- Phototransformation of selected organophosphorus pesticides in dilute aqueous solutions. *Water research* 38: 2305-2314.
- **RODOVALHO,c et al,**2007, Urban ants and transportation of nosocomial bacteria. *Neotropical Entomology* ,36,454-458
- **SEN R, ISHAK HD, ESTRADA D et al.** (2009) Generalized antifungal activity and 454-screening of *Pseudonocardia* and *Amycolatopsis* bacteria in nests of fungus-growing ants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106, 17805–17810
- **SIMONE F., UTE V., URSULA K.,** 2011. Vers fils de fer (taupins): Possibilités de régulation. *Agroscope*,56p.
- **SOLA GRACIA, ERTLIT., A. MARTON, R. FOLDENYIL,** 2018 - Effect of pH and the role of organic matter in the adsorption of isoproturon on soils. *Chemosphere*, 57 :771-779.
- **VERONG.,** 2002. *Organisation et classification du monde animal.* Edition Nathan, Paris, 145p.
- **VILLENAVE C., OUMARBA A., RABARY B.,** 2009. Analyse du fonctionnement biologique de sol par l'étude de la nématofaune: semis direct après labour sur les hautes terres près d'Antsirabé

- **VINCENT, Q.** (2018). Étude des paramètres abiotiques, biotiques et fonctionnels, et de leurs interactions dans des sols délaissés (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
- **WAEEL FRAIHI ,WQSFI FARES,PASCAL PERRIN ,FRANCK DORKELD,DANIS SERENO,WALID BARHOUMI, IMED SBISSI, SAIFEDINE CHERNI, IFHEM CHELBI, RAVI DURVASULA, MARCELO RAMALHO-ORTIGAO, MAHER GTARI, ELYES ZHIOUA** (2017), An integrated overview of the midgut bacterial flora composition of *Phlebotomus perniciosus*, a vector of zoonotic visceral leishmaniasis in the Western Mediterranean Basin

# **Annexe**

### Annexe 1

Préparation du milieu Mac Conkey, Chapman, MRS :

- La poudre déshydratée de chaque milieu est pesée grâce à une balance analytique.
- La poudre est suspendue dans de l'eau distillée.
- Le barreau magnétique est déposé dans le mélange.
- Le mélange est déposé sur une plaque chauffante agitatrice et est bouilli jusqu'à dissolution complète des ingrédients.
- Le milieu est ensuite stérilisé par autoclavage.

### Annexe 2

#### • La Coloration de Gram :

La coloration de Gram est une technique de coloration différentielle utilisée en bactériologie pour distinguer les bactéries à Gram positif des bactéries à Gram négatif. Elle est basée sur la différence de structure de la paroi cellulaire de ces deux types de bactéries.

La coloration de gram est réalisée selon la méthode classique.

Voici les étapes de la coloration de Gram :

#### a. Préparation de l'échantillon : (Frottis)

On Prélève un échantillon de bactéries, puis on étale l'échantillon sur une lame stérile qui contient une goutte d'eau distillée et à l'aide d'une pince, on fixe à la chaleur de bec benzen.

#### b. Coloration au violet de gentiane :

On applique une solution de violet de gentiane sur la lame et laisser agir pendant 1 minute.

Le violet de gentiane colore le cytoplasme des bactéries.

On rince la lame à l'eau distillée.

#### c. Fixation :

On applique la solution de Lugol sur la lame et laisser agir pendant 1 minute.

Le Lugol permet de fixer le violet de gentiane dans le cytoplasme des bactéries. Puis le rinçage de la lame à l'eau distillée.

#### d. Décoloration à l'alcool :

On applique l'alcool sur la lame pendant 30 secondes.

L'alcool décolore le cytoplasme des bactéries à Gram négatif.

Puis le rinçage de la lame à l'eau distillée.

### **e. coloration à la Fushine :**

On applique la solution de Fushine sur la lame et laisser agir pendant 1minute.

La Fushine colore les bactéries à Gram négatif qui ont été décolorées par l'alcool puis le rinçage de la lame à l'eau distillée.

### **f. Séchage et observation :**

Sécher la lame à l'air libre.

Après observer la lame au microscope optique à l'aide d'huile d'immersion.

### **Annexe 3 : milieux pour test biochimique**

- **Test Mannitol mobilité :**

Les tubes mannitol sont ensemencés par piqure centrale à l'aide d'une pipette pasteur, puis incubés à 37 C ° Pendant 24h.

L'utilisation du mannitol se manifeste par le virage de la couleur, du rouge au jaune et la mobilité se manifeste par un trouble toute au tour de la piqure centrale (Tableau I). (Joffin et Leyral, 2001).

- **Citrate de simmons :**

La pente du milieu Citrate de Simmons (Tableau I) est ensemencée par des stries à l'aide d'une pipette pasteur, puis incubées à 30 °C pendant 24h.

L'utilisation de citrate comme seule source de carbone se traduit par un virage de couleur du vert vers le bleu. (Joffin et Leyral, 2001).

- **Recherche de la catalase :**

Le test catalase est une technique utilisée pour identifier les bactéries produisant l'enzyme catalase. Cette enzyme joue un rôle crucial dans la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en eau (H<sub>2</sub>O) et en oxygène (O<sub>2</sub>), Selon la réaction suivante :



On dépose une colonie à l'aide de l'once de platine sur une lame stérile, puis on ajoute une goutte de solution de peroxyde d'hydrogène dans la lame et on mélange lorsque observer la formation de bulles.

- **Le test TSI :**

Triple Sugar Iron (TSI) est un test microbiologique utilisé pour l'identification des entérobactéries. Il permet de déterminer plusieurs caractéristiques métaboliques importantes de ces bactéries, notamment :

- Fermentation des sucres : du lactose, du glucose et du saccharose, la fermentation de ces sucres entraîne des changements de couleur.
  - Production de gaz.
- Production de sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S).

Annexe 4 :

- SOLUTION TOMPON

La composition de la solution tampon comprend 0,7g de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,5g de MgSO<sub>4</sub>, 0,3g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,01g de FeSO<sub>4</sub>, 0,001g de ZnSO<sub>4</sub>, 0,05% de tween 80, et de l'eau milli Q 1L.

Annexe 5

Tableau des résultats obtenus pour l'étude des cuticules de fourmis

Ech	Coloration de gram	Forme	Mannitol /mobilité		TSI			Citrates de Simmons	c a t	Souche suspectée
			Mani	Mob	Glu/Lac	Gaz	H <sub>2</sub> S			
001c mac	Gram+	Cocci	+	-	+	-	-	-	-	<i>Entérocooccus du groupe D</i>
001c chap	Gram+	Bacille	+	+	+	-	-	-	+	<i>Bacillus</i>
001c Mrs	<b>ABSENCE DE CROISSANCE</b>									
002c mac	Gram +	Cocci	+	-	+	-	-	-	-	<i>Entérocooccus Du groupe D</i>
002c mrs	<b>ABSENCE DE CROISSANCE</b>									
002c cha	<b>ABSENCE DE CROISSANCE</b>									

003c mrs	Gram +	Bacille	+	-	+	-	-	-	-	<i>Lactobacillus</i>
003c cha	Gram +	Bacille	+	+	+	+	+	-	+	<i>Bacillus</i>
003c mac	Gram-	Bacille	-	+	-	-	-	+	+	<i>Pseudomonas</i>
004 C mrs	<b>ABSENCE DE CROISSANCE</b>									
004c chap	Gram+	cocci	+	-	+	-	-	-	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
004c mac	Gram-	Bacille	+	+	+	+	-	-	+	<i>E coli</i>
005c mrs	<b>ABSENCE DE CROISSANCE</b>									
005c cha	Gram -	Bacille	+	+	-	-	-	-	+	<i>Bacillus</i>
005c mac	<b>ABSENCE DE CROISSANCE</b>									
006c mrs	<b>ABSENCE DE CROISSANCE</b>									
006c cha	Gram-	cocci	+	-	+	-	-	-	+	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
006c mac	<b>ABSENCE DE CROISSANCE</b>									
007c mrs	Gram+	cocci	+	-	+	-	-	-	-	<i>Entérocooccus</i>
007c chap	Gram+	cocci	+	-	+	-	-	-	+	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
007c mac	Gram-	bacille	+	+	+	+	-	-	+	<i>E coli</i>
008c mrs	<b>ABSENCE DE CROISSANCE</b>									
008c chap	<b>ABSENCE DE CROISSANCE</b>									

008c mac	Gram -	Bacille	+	+	+	+	-	-	+	<i>E coli</i>
009c mrs	Gram+	cocci	+	-	+	-	-	-	-	<i>Entérocooccus</i>
009c chap	Gram+	cocci	+	+	+	+	-	-	+	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
009c mac	<b>ABSENCE DE CROISSANCE</b>									
010c mrs	Gram-	cocci	+	-	+	-	-	-	-	<i>Entérocooccus</i>
010c chap	Gram+	cocci	+	+	+	+	-	-	+	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
010c mac	Gram-	bacille	+	+	+	+	-	-	+	<i>E coli</i>

### Annexe 6

Tableau des résultats obtenus dans l'étude des intestins de fourmis

<i>Ec</i>	<i>Coloration de gram</i>	<i>Forme</i>	<i>Mannitol /mobilité</i>		<i>TSI</i>			<i>Citrate de Simmons</i>	<i>c a t</i>	<i>Souche suspectée</i>
			<i>Mani</i>	<i>Mob</i>	<i>Glu/Lac</i>	<i>Gaz</i>	<i>H2 S</i>			
001int mrs	<b>ABSENCE DE CROISSANCE</b>									
001int mac	<b>ABSENCE DE CROISSANCE</b>									
001int chap	Gram+	Cocci	+	-	+	-	-	-	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
002int mrs	<b>ABSENCE DE CROISSANCE</b>									
002int mac	Gram -	bacille	-	-	+	-	-	+	+	<i>Kleibsella</i>
002int cha	Gram+	cocci	-	-	+	-	+	-	+	<i>Staphylococcus epidermidis</i>

003int mrs	<b>ABSENCE DE CROISSANCE</b>									
003int mac	Gram +	cocci	+	+	+	+	-	-	+	<i>E coli</i>
003int chap	Gram +	cocci	-	-	+	-	-	-	+	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
004int mrs	<b>ABSENCE DE CROISSANCE</b>									
004int mac	<b>ABSENCE DE CROISSANCE</b>									
004int chap	Gram+	cocci	+	-	+	-	-	-	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
005c mrs	<b>ABSENCE DE CROISSANCE</b>									
005int mac	<b>ABSENCE DE CROISSANCE</b>									
005int chap	Gram+	cocci	+	-	+	-	-	-	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
006int mrs	<b>ABSENCE DE CROISSANCE</b>									
006int mac	<b>ABSENCE DE CROISSANCE</b>									
006int chap	Gram+	cocci	+	-	+	-	-	-	+	<i>Staphylococcus epidermidis</i>

007int mrs	<b>ABSENCE DE CROISSANCE</b>									
007int mac	Gram-	Bacille	+	+	+	+	-	-	+	<i>E coli</i>
007int chap	Gram+	cocci	+	-	+	-	-	-	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
008int mrs	<b>ABSENCE DE CROISSANCE</b>									
008int mac	Gram -	Bacille	+	+	+	+	-	-	+	<i>E coli</i>
008int chap	<b>ABSENCE DE CROISSANCE</b>									
009int mrs	<b>ABSENCE DE CROISSANCE</b>									
009int mac	<b>ABSENCE DE CROISSANCE</b>									
009int chap	Gram+	cocci	-	-	+	-	-	-	+	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
010int mrs	<b>ABSENCE DE CROISSANCE</b>									
010int mac	Gram-	bacille	+	+	+	+	-	-	+	<i>E coli</i>
010int chap	Gram+	cocci	+	-	+	-	-	-	+	<i>Staphylococcus aureus</i>

### Résumer :

Afin de mieux comprendre la diversité intrigante de ce microbiote et de répondre à des questions spécifiques, les chercheurs se sont tournés vers les fourmis en tant que modèle animal précieux. Le but de notre étude est d'isoler et d'identifier la diversité bactérienne au sein du microbiote intestinal et du microbiote cuticulaire de deux espèces de fourmis différents : *Messor barbarus* et *Crematogaster scutellaris* provenant de différentes régions de la wilaya de Bouira (Haizer, Erriche). Les échantillons ont été soumis à des techniques d'isolement bactérien, de colorations de Gram et de tests biochimiques. Nos résultats ont révélé la présence de souches bactériennes dans la cuticule, telles que *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *E coli*, *Entérocoque*. Et pour l'intestin on a trouvé : *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Entérocoque*, et *E coli*. Cette recherche a fourni des informations précieuses sur la diversité du microbiote intestinal et cuticulaire des fourmis en Bouira, ouvrant la voie à de nombreuses recherches futures dans ce domaine.

Mots-clés : Microbiote intestinal, Microbiote cuticulaire, *Messor barbarus*, *Crematogaster scutellaris*, Fourmis.

### Summary:

To better understand the intriguing diversity of this microbiota and answer specific questions, researchers have turned to ants as a valuable animal model. The aim of our study is to isolate and identify the bacterial diversity within the intestinal microbiota and the cuticular microbiota of two different species of ants: *Messor barbarus* and *Crematogaster scutellaris* coming from different regions of the wilaya of Bouira (Haizer, Erriche). The samples were subjected to bacterial isolation techniques, Gram stains and biochemical tests. Our results revealed the presence of bacterial strains in the cuticle, such as *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *E coli*, *Enterococcus*. And for the intestine we found: *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Enterococcus*, and *E coli*. This research provided valuable information on the diversity of the intestinal and cuticular microbiota of ants in Bouira, paving the way for much future research in this area.

Keywords: Intestinal microbiota, Cuticular microbiota, *Messor barbarus*, *Crematogaster scutellaris*, Ants.

### ملخص:

ومن أجل فهم التنوع المثير للاهتمام للكائنات الحية الدقيقة والإجابة على أسئلة محددة بشكل أفضل، لجأ الباحثون إلى النمل باعتباره نموذجًا حيوانيًا قيمًا. الهدف من دراستنا هو عزل وتحديد التنوع البكتيري داخل الميكروبات المعوية والميكروبات الجلدية لنوعين مختلفين من النمل: *Messor barbarus* و *Crematogaster scutellaris* القادمين من مناطق مختلفة من ولاية البويرة (حيزر، و ليش). تم إخضاع العينات لتقنيات العزل البكتيري وصبغة جرام والاختبارات البيوكيميائية. كشفت نتائجنا عن وجود سلالات بكتيرية في البشرة، مثل *Bacillus*، *Pseudomonas*، *Staphylococcus*، *E coli*، و *Enterococcus*. وبالنسبة للأمعاء وجدنا: *المكورات العنقودية*، و *الكليسيلا*، و *المكورات المعوية*، و *بيكتيريا قولونية*. قدم هذا البحث معلومات قيمة عن تنوع الكائنات الحية الدقيقة المعوية والجلدية للنمل في البويرة، مما يمهد الطريق لمزيد من الأبحاث المستقبلية في هذا المجال.

الكلمات المفتاحية: الكائنات الحية الدقيقة المعوية، الكائنات الحية الدقيقة الجلدية، *Messor barbarus*، *Crematogaster scutellaris*، النمل.