

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

N°...../SNV/2019

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

M^{lle} BOUICH NORIA et M^{lle} BOUCEDRA DJAHIDA

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité: Génétique fondamental et appliqué

THÈME

**La biodégradation des feuilles du roseau commun
par les bactéries (*Phragmites australis*)**

Soutenue publiquement le 15/07/2019.

DEVANT LE JURY

Président	<i>NABBACHE. S</i>	<i>MCB</i>	<i>U. MOSTAGANEM</i>
Encadreur	<i>CHIBANI. A</i>	<i>Professeur</i>	<i>U. MOSTAGANEM</i>
Examineurs	<i>CHADELI. R</i>	<i>Professeur</i>	<i>U. MOSTAGANEM</i>

Thème réalisé au Laboratoire de microbiologie et biologie animale

Remerciement

Avant toute chose, nous remercions Allah qui nous a donné la patience, le courage et la volonté pour réaliser ce mémoire.

Nous tenons aussi à présenter nos sincères remerciements à notre encadreur le **Dr CHIBANI.A.** Pour la confiance qu'il nous a accordée en acceptant cet encadrement

Pour sa disponibilité tout au long de l'élaboration de ce mémoire, pour son aide Ses critiques et ses suggestions, et surtout pour sa patience dans la correction de ce mémoire.

Nous remercions **Mr NEBBACHE. S,** d'avoir accepté la présidence du jury de la soutenance.

Nous remercions **Mr CHADLI.R,** qui a accepté d'examiner ce modeste travail.

Finalement, nous remercions tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire.

A vous tous, un grand Merci.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A mes très chers parents, qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde gratitude pour leur amour, leur encourage et leur soutien tout au long de mes études.

A mes chères sœurs et frères

A mon mari Hocine qui m'a encouragé, qui m'a donné la force et la volonté de surmonter tous les obstacles et les difficultés.

A tous mes collègues de promotion

Noria

Dédicace

J'ai le grand plaisir de dédié ce modeste travail :
A mon père (Larbi) pour son soutien et son amour, à
Ma mère (Rokaya) je dédier ma vie toute entière car
Sans toi je n'aurai été ce que je suis aujourd'hui.
A mes frères et sœur Safia, Mohamed, Samiha,
Fatima, Oussama et Abed el Madjid .
A mes meilleur amis Saida, Noria, Assia
. A ma très chère amie et collègue Noria, ensemble
nous avons partagés d'agréables
Moments tout au long de la réalisation de ce travail et
de notre cursus universitaire. A toute
La promotion MASTER de génétique fondamentale et
appliquée.

Djahida.

La liste des tableaux

Tableau 01 : Les compositions chimiques de *Phragmites australis*(Cav.) Trin. ex Steud

Tableau 02 : Les compositions minérales de *Phragmites australis*

Tableau 03 : Les acides aminés de *Phragmites australis*

Tableau 04 : Aspect macroscopique des colonies sur le milieu GN solide.

Tableau 05 : Aspect macroscopique de l'ensemencement sur GN après purification.

Tableau 06 : Les résultats des tests biochimiques.

Tableau 07 : Les résultats de galerie API 20E pour la souche C1

Tableau 08 : Les résultats de galerie API 20E pour la souche C2

Tableau 09 : Les résultats de la DO pendant 3mois.

La liste des figures

Figure 01 : Les différentes parties de *Phragmites australis* (Cav.) Trin. Ex Steud.

Figure 02 : Structure de cellulose

Figure 03 : Structure de la biomasse lignocellulosique

Figure 04 : Action des principales hémicellulases nécessaires à l'hydrolyse des glucuronoarabinoxylanes

Figure 05 : La partie de plante utilisée

Figure 06 : Culture bactérienne après l'agitation pendant 24h.

Figure 07 : Les trois différentes cultures

Figure 08 : Les dilutions décimales de culture bactérienne.

Figure 09 : La lecture de galerie API 20E

Figure 10 : Schéma représenté les étapes d'isolement et l'identification bactérienne.

Figure 11 : La galerie API20E après incubation pour la première souche

Figure 12 : La galerie API20E après incubation pour la deuxième souche.

Figure 13 : La formation de biofilm sur la surface de feuilles

Figure 14 : La courbe de croissance bactérienne

Liste des Abréviation

Abs : Absorption.

ADH : Arginine déshydrolase

AMY: Amylose

API 20 E : Appareil et Procédés d'Identification 20 Entérobactéries.

ARA: Arabinose

CIT : Citrate

DO:Densité optique.

F :Flacon.

Fe : Feuille

GEL : Gélatine

GLU : Glucose

GN : gélose nutritive

H : heure.

H₂O₂ : L'eau oxygénée

H₂OD : Eau distillée.

H₂S: Sulfate d'hydrogène

MS : Matière sèche.

MM : Milieu minéral

SM : solution mère.

SB : Suspension bactérien

Résumé

L'étude de la biodégradation des roseaux est largement explorée à cause de leur longue durée de vie dans la nature, la colonisation microbienne et ses relations avec la biodégradation de roseau commun (*Phragmites australis*), le composé chimique supporte la croissance et sert comme source de carbone et d'énergie aux microorganismes, alors la biodégradation se produira seulement en présence de l'inducteur naturel. Cela peut sévèrement limiter les applications de la capacité enzymatique.

L'objectif principal de cette étude était d'isoler et de caractériser des bactéries usées pour la dégradation de feuilles mortes de roseau, Cela nous a permis d'identifier et de caractériser deux souches de *Pseudomonas*.

Mots clés : La biodégradation, *Phragmites australis*, *Pseudomonas*, biofilm

Abstract

The study of biodegradation of reed is widely explored because of their long life in nature, microbial colonization and its relationship with the biodegradation of common reed (*Phragmites australis*), the chemical compound supports growth and serves as a source of carbon and energy to microorganisms, and then biodegradation will occur only in the presence of the natural inducer. This can severely limit the applications of the enzymatic capacity.

The main objective of this study was to isolate and identify bacteria used for the degradation of dead leaves of reed. This enabled us to identify and characterize two strains of *Pseudomonas*.

Keyword: Biodegradation, *Phragmites australis*, *Pseudomonas*, biofilm

Sommaire

Remerciements

Dédicace

La liste des tableaux

La liste des figures

Liste des abréviations

Résumé

Abstract

Introduction

Chapitre I : partie bibliographique

1. Présentation de la plante.....	01
2. Description botanique.....	01
3. Systématique de la plante.....	03
4. La variabilité génétique de roseau.....	04
5. composition chimique.....	05
6. L'utilisation de la plante.....	07
6.1. Usages alimentaires.....	07
6.2. Usages médicinaux.....	08
6.3. Usages industriels.....	08
6.4. Usages agricoles.....	09
6.5. Usages aquaculture.....	09
7. Les caractéristiques biologiques de l'espèce.....	10
7.1. Reproduction végétative.....	10
7.2. Reproduction sexuée.....	11

Chapitre II : La biodégradation

1. Généralité sur la biodégradation.....	13
2. Mécanisme de dégradation biologique.....	13
2.1. Fragmentation.....	13
2.2. Hydrolyse enzymatique.....	14
2.3. Bio-assimilation.....	14
3. La biodégradation de roseau commun.....	15
4. La biodégradation de feuille de roseau commun.....	16
5. La dégradation de la matière ligno-cellulosique.....	17
5.1. La cellulose.....	17
5.1.1. Mode d'action de cellulase.....	18
5.2. L'hémicellulose.....	18
5.3. La lignine.....	20

Chapitre III : Matériels et Méthodes

I. Matériel végétal.....	22
II. Méthodes.....	22
II.1. Enrichissement.....	22
II.2. Préparation des dilutions.....	24

II.3. L'isolement des microorganismes.....	24
II.4. Purification.....	24
II. 5. Identification des isolats.....	25
5.1. Etude morphologique.....	25
5.1.1. Etude macroscopique.....	25
5.1.2. Etude microscopique.....	25
5.2. Etude biochimique.....	25
5.2.1. Recherche de catalase.....	25
5.2.2. Mannitol- mobilité.....	26
5.2.3. Test d'amylase.....	26
5.2.4. Plaque API 20E.....	26

Chapitre IV : Résultats et Discussions

I.1.1.Etude morphologique.....	29
I.2. Identification.....	30
I.2.1. Observation microscopique.....	30
I.2.2. Etude biochimique.....	31
I.2.2.1. Recherche de catalase.....	31
I.2.2.2. Test d'amylase.....	31
I.2.2.3. Mannitol-mobilité.....	31
I.2.2.4. Identification API20E.....	33
I.3. La formation de biofilm.....	35
I.4. La mesure de la turbidité.....	35
II. Discussions.....	38

Conclusion

Références bibliographique

Annexes

Introduction

Avec la chute automnale des feuilles, qui représente une importante source d'énergie pour les communautés aquatiques animales (**Anderson et Sedell, 1979, Cumins et al., 1966, Fisher et Likens, 1973**), débute un ensemble de processus physiques, chimiques et biologiques complexes qui aboutissent à la minéralisation de la matière organique particulaire, et par conséquent, à la libération d'éléments biogènes. La dynamique de ces processus conditionne, dans une large mesure, la nutrition minérale et azotée des plantes aquatiques.

La mise en circulation de cette matière au sein de l'écosystème passe par une première phase d'attaque par des bactéries et des champignons, ainsi que par une fragmentation mécanique par les invertébrés (mollusques, larves d'insectes, crustacés...)(**Anderson et Sedell, 1979**).

Le mot « roselière » est défini suivant les cas au sens strict, de formation dominée par le roseau du type *Phragmites australis*, ou au sens large en regroupant l'ensemble des principales formations à grandes hélrophytes poacées, typhacées ou cypéracées. Elles présentent des caractéristiques écologiques communes, tendances à former de peuplements mono-spécifiques, importance de la proximité de l'eau (**Piriou et al., 2001**).

Un sens très large, dans la nature, il n'y a pas de déchets car presque tout est recyclé. au sens microbiologique, on entend par « biodégradation » la dégradation de toutes les matières organiques par des formes de vie comprenant principalement des bactéries, des champignons, des protozoaires et d'autres organismes.

Grâce à ce processus biologiquement naturel, les contaminants toxiques dangereux sont transformés en substance moins toxique ou non toxiques. Les métabolites secondaires, les molécules intermédiaires ou tout produit de dégradation d'un organisme peuvent devenir des éléments nutritifs pour d'autres, corroborer la source de carbone et de l'énergie et poursuivre la décomposition de matières organiques restantes (**U.S. Geological Survey, 2007**).

La décomposition de la matière végétale est le processus de dégradation physique et chimique des tissus de plantes. La transformation de cette matière organique morte aboutit à une libération d'énergie et à la libération d'eau, de dioxyde de carbone et d'éléments minéraux.

dans le sol, sous une forme disponible pour les végétaux (**Chapinet *et al.*, 2002, Begonet *et al.*, 2005**).

Près de 90% de la biomasse produite par les plantes entre dans le pool de matière organique que constitue la litière (**Gessner *et al.*, 2010**). Siège du recyclage de la matière organique, la dégradation de la litière est vitale pour le fonctionnement de l'écosystème entier (**Graça *et al.*, 2005**).

1. Présentation de la plante.

Le roseau commun a été décrit pour la première fois en 1753 par Linnaeus comme *Arundo Phragmites* L. Plus tard, le genre *Phragmites* est fixé pour distinguer le roseau commun sur les autres graminées. La deuxième partie du nom *Phragmites australis* est extraite du nom de l'Australie où elle est découverte pour la première fois (**Clayton, 1967**).

En Amérique du Nord existent plusieurs génotypes de roseau : 11 génotypes indigènes (peu envahissants) et un génotype exotique (génotype M), originaire d'Eurasie, qui est envahissant (**Lavoie, 2008**). Au Québec, la plus ancienne colonie de roseaux d'origine exotique a été recensée en 1916 dans la région Chaudière-Appalaches. Le roseau s'est propagé le long du fleuve Saint-Laurent, puis, dans les années soixante, on a observé une propagation à l'intérieur des terres, qui coïncide avec la construction du réseau autoroutier (**Lelong et al., 2007**).

2. Description botanique

Le roseau commun (*Phragmites australis* (Cav.) Trin. Ex Steud) est une plante vasculaire de la famille des graminées (*Poaceae*). Cette plante vivace peut atteindre une grande taille (plus de 6 m) et former des colonies mono spécifiques particulièrement denses pouvant contenir jusqu'à 325 tiges par mètre carré, et où le taux d'évapotranspiration peut atteindre 5 à 13 L par jour par mètre carré, ce qui est parfois supérieur aux précipitations reçues.

Les tiges, dont le diamètre varie de 4 à 10 mm, sont produites à chaque printemps, mais elles meurent à la fin de l'automne. Elles demeurent toutefois érigées en hiver, et ce n'est qu'au printemps suivant qu'elles s'affaissent progressivement sur le sol et forment une litière qui peut atteindre plusieurs centimètres d'épaisseur et qui est lente à se décomposer (**Mal et Narine, 2004**).

Au sommet de ces dernières, inflorescence violacée - brunâtre, très grandes 10-30 cm, en panicule (les fleurs sont très espacées les unes des autres). Epillets 2-7 fleurs, hermaphrodite, glumes très inégales, glumelles inférieures acuminées (prolongées en pointe), anémogame et anémochore (pollinisé et dispersé par le vent), les graines sont bruns, mince et délicate

mesurent environ 2,5cm de long et très légères 0.1mg, elles ne disposent que de peu de réserves nutritives (**Rayanal, 1994**).

La plante développe une biomasse vivace importante, principalement située dans les rhizomes et les racines (**Hocking, 1989**). Les rhizomes ancrés profondément dans le sol entre 50 à 130 cm de profondeur. Les feuilles ont des nervures parallèles, également très grandes 30 - 70 cm, voir plus et très larges 1 à 3 cm comparées aux autres poacées, normalement disposées à la perpendiculaire de la tige, Ligule formée d'une rangé de poils courts (pas de membrane entre la feuille et la tige) (**figure 01**) (**Marnotte et al., 2006**).

La mort annuelle des tiges aériennes crée une litière qui se décompose lentement. Cette litière peut nuire à la croissance des autres plantes en bloquant la lumière et l'accès au sol pour les semences (**Haslam, 1972 ; Minchinton et al., 2006**).

Elle peut aussi modifier les propriétés chimiques du sol et sa teneur en nutriments ainsi que sa microtopographie, ce qui peut créer un environnement plus sec (**Chambers et al., 1999; Windham et Lathrop, 1999; Meyerson et al., 2000; Zedler et Kercher, 2004**).



Figure 01 : Les différentes parties de *Phragmites australis* (Cav.) Trin. Ex Steud.

(Kleche *et al.*, 2013).

3. Systématique de la plante

La plante *Phragmites australis* est classée dans :

Règne : végétale.

Embranchement : Spermaphytes.

Sous embranchement : Angiospermes.

Classe : Monocotylédones.

Ordre : Graminales.

Famille : Graminées (Poaceae)

Genre: *Phragmites*.

Espèce: *Phragmites australis*. (Quezel *et al.*, (1962-1963)).

4. La variabilité génétique de roseau

Les populations peuvent différer par leur date d'émergence, leur hauteur, rectitude et coloration des tiges, texture des feuilles et sensibilité aux facteurs de stress environnementaux (Haslam, 1972)

(Rodwell, 1998) a noté que la variabilité parmi les populations de *P. australis* en Grande-Bretagne était présumée être phénotypique (c'est-à-dire la réponse des génotypes aux conditions environnementales, plutôt que génétique), (Paul *et al.*, 2011) ont confirmé structuration génétique différenciée entre 14 roseaux dans Angleterre, Écosse et pays de Galles.

Ils ont conclu leurs échantillons tétraploïdes à tendance végétative et sexuelle reproduction mais flux génétique limité entre roseaux. Des différences notables existent entre les taxons infraspécifiques qui sont considéré comme formant le complexe d'espèces *P. australis* en dehors de la Grande-Bretagne.

En Amérique du Nord, il existe plusieurs différences entre les peuples autochtones et lignées non indigènes, y compris morphologiques (par exemple, génotypes indigènes ont généralement des tiges rouges, quelque peu tordues; (Swearingen et Saltonstall, 2010) et phénologiques (par exemple, des lignées non indigènes émergent plus tôt au printemps et persistent plus tard en automne (Meyerson *et al.*, 2010).

❖ Le Nombre de Chromosomes :

Les rapports sur le nombre de chromosomes de *P. australis* diffèrent: $2n = 36, 48, 84$ et 96 (Löve et Löve, 1961; Haslam, 1972; Hocking *et al.*, 1983). Les nombres chromosomiques de *P. australis* au Québec démontrent un haut degré d'aneuploïdie (différent du nombre chromosomique normal pour le petit nombre) et varient entre $2n = 42$ et 59 (Gervais *et al.*, 1993).

Les populations de *P. australis* en le nord du Canada a tendance à avoir un nombre de chromosomes plus bas que dans le sud (Gervais *et al.*, 1993). (Björk, 1967) a rapporté spécimens tétraploïdes et hexaploïdes de Suède, et (Raicu *et al.*, 1972) ont rapporté un roseau

octoploïde ($2n = 96$) peuplements, avec des pousses de plus de 6 m de hauteur, du delta du Danube.

Un nombre de chromosomes aneuploïdes ($2n = 50$) a également été signalés à partir de roseaux courts dans les habitats salins de l'ancien Tchécoslovaquie (**Pazourkova, 1973**). Alors que les tétraploïdes sont le type dominant trouvé en Europe, les poulpes sont prédominants en Asie (**Clevering et Lissner, 1999**).

(**Connor et al., 1998**) ont rapporté une large gamme de variations cytologiques par rapport aux clones en Nouvelle-Zélande. Outre les tétraploïdes ($2n = 48$) et les octoploïdes ($2n = 96$), divers aneuploïdes ont été signalés, dont $2n = \pm 264$. Une souche hexaploïde ($2n = 72$) stérile a également été signalée à Trinidad. Avec un nombre de chromosomes de base de $x = 12$, *Phragmites* est probablement un ancien polyploïde diploïdisé d'origine. Basé sur (**Gorenflot, 1986**), (**Connor et al., 1998**) ont rassemblé une liste de niveaux de ploïdie ($3x, 4x, 6x, 7x, 8x, 11x; x_2 = 12$) chez *P. australis* de différents pays.

5. Composition chimique :

Le roseau commun, comme toutes les autres plantes possède un taux très élevé en matière sèche (MS) qui représente environ 93% de la composition générale et 7% d'eau (**Baran et al., 2002 ; Zirmi-zembri et kadi, 2016**).

Cette dernière renferme la matière cellulosique et hémi-cellulosique (fibres) qui représente respectivement 33 à 36% et 20 à 22% (**Muthanna, 2017**), une matière organique de 87,05 g/kg de la matière sèche qui représente 8,7% de la composition chimique, des acides gras de 18 g/kg qui représentent 2% de la MS, 67.3 g/kg (6.73% de la MS) est une poudre Ash (**Tableau 01**).

Pour la composition minérale, la plante renferme un mélange de Ca, Mg, K, Na, P, Fe, Mn, Zn et Cu qui représente un taux global d'environ 20% de la composition générale (**Tableau 02**). Des acides aminés représentant environ 7.9% de la composition générale (**Tableau 03**) selon (**Baran et al., 2002**).

Les activités biologiques du roseau sont souvent attribuées aux acides organiques et aux acides gras à courte chaîne aliphatique comme l'acide propionique, l'acide butyrique, iso-butérique, l'acide fumarique et l'acide acétique

Tableau 01: Les compositions chimiques de *Phragmites australis*

Composition chimique	valeurs
Matière sèche	93.8%
Matière organique	87,05 g/kg MS
Acide gras	18.2 g/kg MS
Fibre	278.3 g/kg MS
Ash	67.3 g/kg MS

Tableau 02: Les compositions minérales de *Phragmites australis*

Compositions minérales	Valeurs
Ca	2.660 g·kg ⁻¹
Mg	2.649 g·kg ⁻¹
K	10.899 g·kg ⁻¹
Na	0.534 g·kg ⁻¹
P	1.575 g·kg ⁻¹
Fe	58.750 mg·kg ⁻¹
Mn	96.964 mg·kg ⁻¹
Zn	26.964 mg·kg ⁻¹
Cu	8.452 mg·kg ⁻¹

Tableau 03 : Les acides aminés de *Phragmites australis* (Baran *et al.*, 2002).

Acide aminé	valeurs
Thr	4.393 (g/kg)
Val	3.604(g/kg)
Ile	3.158(g/kg)
Leu	6.042 (g/kg)
Tyr	4.962 (g/kg)
Phe	4.995(g/kg)
His	2.200 (g/kg)
Lys	5.082 (g/kg)
Arg	7.247 (g/kg)
Met	0.378(g/kg)
Asp	9.819 (g/kg)
Ser	4.330 (g/kg)
Glu	9.376 (g/kg)
Pro	7.081 (g/kg)
Gly	4.307 (g/kg)
Ala	6.981 (g/kg)
Cys	0.199 (g/kg)

6. L'utilisation de la plante

6.1. Usages alimentaires

Les feuilles de roseau ont une valeur nutritive très intéressante. Elles sont utilisées dans l'alimentation des ruminants, des équins et des lapins (Kadi *et al.*, 2012).

Les tiges sont employées comme clôtures de jardins et barrières pour les animaux, de plus, les *Phragmites* sont utilisés comme des engrais et contribuent donc à la fertilisation de la terre (Köbbing *et al.*, 2014).

6.2. Usages médicaux

Les feuilles et les rhizomes de roseau commun sont utilisés en médecine traditionnelle depuis longtemps dans le traitement d'arthrites rhumatoïdes, rhumatisme, leucémie et autres types de cancer, problèmes des seins, diabète, jaunisse (hépatite), nausée et typhoïde (**Rahmatullah et al., 2010**).

Dans les régions tropicales, *Phragmites australis* est utilisé comme traitement contre la bronchite, la diarrhée, la fièvre et les douleurs d'estomac.

En Afrique de Sud, la poudre des graines est utilisée comme ingrédient dans les crèmes contre les brûlures, en plus, le rhizome de roseau est considéré comme diaphorétique, diurétique et émétique (**Brink et al., 2012**).

6.3. Usages industriels

En industrie, cette plante est considérée comme un matériau primaire pour la fabrication d'un grand nombre de produits industriels tel que le carton, le textile et le papier où la qualité de ce dernier varie en fonction de pourcentage de roseau contenu dans la pâte de fabrication de papier dont 30% donne une bonne qualité et le papier produit avec 80% de roseau est destiné à l'emballage (**Mal et Narine, 2004**).

En outre, le roseau commun est utilisé dans la construction des toits, la base des plâtres, il est classé comme un bon isolant thermique qui évite la déperdition des chaleurs vers l'extérieur en hiver et la transmission des chaleurs vers l'intérieur en été. Le roseau est employé aussi dans la fabrication de produits de vannerie comme les nattes, les paniers, les chapeaux et les sacs (**Köbbing et al., 2014**).

Il est considéré comme une source importante d'énergie par le processus de combustion et la fabrication des biocarburants. En effet, les phragmites récoltés en automne et en hiver sont transformés en brique ou en bottes afin d'être brûlés. D'autre part, la génération de l'énergie à partir du roseau peut être autrement obtenue par la production de biocarburant (bio éthanol, bio diesel et bio hydrogène) utilisés par les véhicules (**Cavalaglio et al., 2015**).

L'éthanol est obtenu par une fermentation des sucres fermentescibles contenus dans le roseau (**Köbbing et al., 2014**).

6.4. Usages agricoles

En agriculture, l'utilisation du roseau est étendue dans plusieurs pays et sa récolte devenue actuellement un grand marché international (**Brink et al., 2012**) où il est utilisé pour le pâturage des animaux car les bourgeons de roseau commun sont verts et doux. Il est récolté en été et stocké afin d'être utilisé comme une bonne source fourragère durant l'hiver (**Asaeda et al., 2006**).

6.5. Usages aquaculture :

Actuellement et à l'échelle mondiale, *Phragmites australis* est utilisé largement dans le domaine de l'aquaculture comme une macrophyte hyper accumulatrice pour traiter et purifier les eaux grâce à son développement racinaire étendu et sa capacité à absorber les polluants.

L'utilisation du roseau dans les bassins d'épuration des eaux usées constitue une technique très importante pour un objectif de réduire le niveau de contamination en métaux lourds et en microorganismes et les rendre réutilisables en agriculture (**Giudice et Bonanno, 2010 ; Bonanno, 2013**).

Phragmites australis comme les macrophytes sont caractérisés par un système racinaire très actif, ces racines ont l'aptitude d'absorber et d'accumuler certains éléments métalliques. Cette plante présente une forte tolérance au zinc, plomb, fer, cuivre et au cadmium au niveau des racines (**Ait Ali et al., 2004**).

Ces éléments traces accumulés sont transportés ensuite vers les parties aériennes sous forme cationique liée aux acides organiques et/ou acides gras à courte chaîne aliphatique (fumarique, citrique, oxalique, propionique, butyrique) où sont stockés finalement dans les vacuoles des cellules foliaires (**Windham et al., 2003 ; Kleche et al., 2013**).

7. Les caractéristiques biologiques de l'espèce :

7.1. Reproduction végétative :

C'est à partir de la reproduction végétative par l'entremise de ses stolons et de ses rhizomes que le phragmite peut produire des populations très denses pouvant atteindre un total de 200 tiges/m² (**Boutin et Poulin, 2013**).

En effet, c'est à partir de la croissance de ses stolons qui vont s'étendre sur plusieurs mètres que la graminée peut ainsi former de nouveaux individus, soit à chacun des nœuds de sa tige. La croissance de la colonie via les stolons permet au roseau exotique de traverser des obstacles tels que des toiles et de l'asphalte pour atteindre un nouvel environnement.

Des recherches ont démontré que les stolons du phragmite peuvent croître sur près de dix mètres par année alors que les rhizomes atteignent une croissance de près de deux mètres par année. D'ailleurs, il est possible de retrouver des rhizomes à plus de 85 centimètres de profondeur dans le sol, ce qui permet à l'espèce de se nourrir et de se fixer adéquatement au sol. Avec l'ampleur d'un tel réseau souterrain, il est normal que le trois quarts de la biomasse de cette espèce envahissante se retrouve davantage sous terre qu'à la surface du sol.

La grosseur du réseau de rhizomes, son taux d'expansion et sa densité peuvent varier en fonction du milieu colonisé. Cet immense réseau racinaire complique donc le contrôle des populations de phragmite et surtout son élimination. En ce qui concerne la croissance apicale du roseau exotique, une croissance de sa tige de près de quatre centimètres par jour peut être observée afin d'atteindre une hauteur totale de six mètres (**Boutin et Poulin, 2013; Karathanos, 2014**).

De plus, toute cette biomasse se décompose très lentement au sol, ce qui a comme conséquence de nuire aux espèces végétales voulant croître à ces endroits précis. En effet, la lumière ainsi que l'accès aux nutriments leur seront restreints par la graminée en plus de contribuer à modifier les propriétés chimiques du sol et de ses nutriments de par sa présence (**Karathanos, 2014**).

7.2. Reproduction sexuée :

Toutefois, mis à part via la reproduction végétative, le roseau exotique peut aussi se disperser durant l'automne à partir des 1 000 à 2 000 graines que possède chacune de ses inflorescences. Celles-ci peuvent être facilement transportées que ce soit à l'aide du vent, de l'eau, des animaux que des activités humaines.

Ce qui fait de sa reproduction sexuée sa méthode de dissémination la plus importante. Par contre, le taux de viabilité des graines est très variable, c'est-à-dire qu'une grande majorité de ses graines possède une viabilité nulle ou faible alors qu'un nombre restreint d'entre elles possède une bonne viabilité.

La grande variabilité génétique observée entre les populations de roseau a confirmé que la reproduction sexuée était le mécanisme prédominant ayant mené à l'établissement de nouvelles populations et la propagation du roseau exotique sur un territoire (**Belzile et al., 2010**).

D'ailleurs, c'est aussi ce type de reproduction qui lui permet de parcourir de plus grandes distances afin de coloniser de nouveaux emplacements et ainsi débiter de nouvelles colonies. Cette graminée possède une préférence pour les abords des milieux humides, des zones côtières, des routes ainsi que des milieux perturbés où elle peut se reproduire rapidement au début du printemps lorsque peu d'espèces y sont présentes.

Au stade de semences, le roseau exotique n'est pas tolérant à la salinité, ce n'est qu'une fois le stade de maturation terminé qu'il développera une bonne tolérance à la salinité. De plus, c'est seulement à partir de la deuxième année que le phragmite pourra se disperser à partir de ses rhizomes et de ses stolons pour ainsi produire de nouvelles tiges et éventuellement, des hampes florales. Ainsi, la première année de vie du roseau exotique est consacrée à sa croissance et à sa reproduction sexuée. Ce n'est qu'une fois la reproduction végétative possible que l'espèce pourra ainsi se propager vers des habitats moins propices à sa survie tels que des milieux secs et des milieux aquatiques (**Boutin et Poulin, 2013; Brisson, 2014**).

En outre, seulement 85 % de la litière produite serait en mesure de se décomposer en une seule année, ce qui produit donc un problème important pour les autres espèces végétales désirant croître à cet endroit (**Perez, 2011**).

En plus de sa reproduction sexuée et végétative, le roseau exotique peut aussi se propager à l'aide de fragments de sa tige, de ses rhizomes ou de ses stolons. Ainsi, si la plante est coupée et que des résidus de celle-ci sont toujours présents au sol, le phragmite pourra alors former de nouveaux individus. D'ailleurs, même si l'ensemble des résidus est enlevé du milieu envahi, la graminée pourra tout de même croître dans cet environnement puisqu'elle aura laissé des réserves de ses semences dans le sol, ce qui lui permettra de former de nouveaux individus à nouveau (**Boutin et Poulin, 2013**).

De manière générale, il semblerait que la biomasse de la graminée atteigne son maximum entre le mois de juillet et de septembre et qu'elle possède un taux de croissance linéaire. De plus, les colonies de roseaux exotiques pourraient atteindre une densité allant jusqu'à 325 tiges/m² (**Perez, 2011**).

1. Généralité sur la biodégradation

La biodégradation est définie comme la réduction de la complexité des produits chimiques par catalyse biologique composés. En effet, la biodégradation est le processus par lequel les substances organiques sont décomposées en composés plus petits par des organismes microbiens vivants.

Quand la biodégradation est terminée, le processus s'appelle "minéralisation". Cependant, dans la plupart des cas, le terme biodégradation est généralement utilisé pour décrire presque tous les changements à médiation biologique dans un substrat.

Les matières biodégradables sont généralement des matières organiques telles que des matières végétales et animales et d'autres substances provenant d'organismes vivants ou de matériaux artificiels suffisamment similaires aux matières végétales et animales pouvant être utilisées par des micro-organismes (Nezha et al., 2014).

2. Mécanisme de dégradation biologique

2.1. Fragmentation

La première étape concerne la fragmentation du matériau et peut être considérée comme élément déclencheur de la chaîne globale de dégradation. La détérioration mécanique et physico-chimique est généralement provoquée par des agents érosifs plus ou moins sévères (broyage ou ressac, irradiation UV, eau, vent...). Cette première étape, primordiale, a pour résultats le morcellement du matériau qui permet une augmentation de la surface en contact avec les micro-organismes.

Parallèlement, la fragmentation peut être provoquée par des êtres vivants (bactéries, champignons, vers de terre, insectes ...), on parle alors d'hydrolyse enzymatique.

2.2. Hydrolyse enzymatique

Les champignons, les bactéries ou les algues de notre environnement disposent d'un important arsenal exo-enzymatique capable de permettre la dégradation de macromolécules organiques qu'ils sont incapables de bio-assimiler de manière directe du fait de leur masse molaire élevée. Réduire ce polymère en éléments beaucoup plus petits (faibles masses molaires) avant d'envisager de le consommer est nécessaire de plus, un certain nombre de ces actions exo-enzymatiques catalyse en fait des hydrolyses : c'est le cas, par exemple de l'action des amylases, des protéases, des nucléases, des cellulases, estérases, et autres hydrolases (**Philippeaux, 2013**).

2.3. Bio-assimilation

C'est la dernière étape du processus de biodégradation. Les macromolécules ont été réduites en molécules suffisamment petites pour pénétrer dans les cellules vivantes et être intégrées aux cycles physiologiques anaboliques (construction, maintien et réorganisation de la biomasse) et cataboliques (source d'énergie).

Idéalement, le matériau est minéralisé sous forme de dioxyde de carbone et d'eau d'une part et transformé sous forme de biomasse d'autre part. On ne considère plus ici le type de dégradation subie par le polymère mais sa capacité à être totalement transformé en composés assimilables dans un milieu particulier

En exploitant les communautés microbiennes, les «forces» naturelles de la biodégradation, réduction des déchets et nettoyage de la plupart des contaminants de l'environnement peuvent être atteints.

Selon la nature des micro-organismes, ceux-ci peuvent manger une partie de la molécule organique seulement, détruisant le parent intact substance dans un processus connu sous le nom de «biodégradation primaire», ou ils peuvent la manger complètement dans un processus appelé «biodégradation ultime».

La partie de l'activité métabolique produisant de l'énergie consomme de l'oxygène, ce qui entraîne la formation immédiate de dioxyde de carbone, d'eau et de sels minéraux dans un processus appelé «minéralisation» (U.S. Geological Survey, 2007).

3. La biodégradation de roseau commun (*Phragmites australis* (Cav.) Trin. Ex Steud) :

L'importance des microorganismes en tant qu'agents de la décomposition des déchets végétaux en milieu aquatique est reconnue depuis longtemps. La décomposition est définie comme les changements de la matière organique après la sénescence (Brinson *et al.*, 1981).

Des facteurs tels que la qualité de la litière, les conditions environnementales (Godshalk et Wetzel, 1978), l'activité microbienne et l'alimentation des invertébrés influent sur les taux de décomposition. Le processus de la décomposition commence par une période de lixiviation rapide de matières abiotiques solubles (par exemple, protéines, acides organiques, polysaccharides) et de minéraux (par exemple, potassium, calcium, magnésium et manganèse) pendant plusieurs jours après la sénescence.

Parmi les différents groupes fonctionnels de bactéries, les bactéries cellulolytiques jouent un rôle important dans la décomposition de feuilles mortes de macrophytes émergente, parce que la cellulose est un composant majeur de cette litière (Tanaka, 1993).

Phragmites australis crée un microenvironnement aérobie à travers une alimentation en oxygène aérénchymateuse permet la décomposition de la matière organique et favorise croissance de bactéries nitrifiantes (Gumbrecht, 1992). *Phragmites australis* est une plante en décomposition lente (Warren *et al.*, 2001) et prend 365 jours pour une décomposition à 85% de son poids initial. Le taux de décomposition le plus élevé s'est produit lorsque les activités microbiennes étaient élevées au cours des 2 à 3 premières semaines de l'expérience. La libération de phosphore était progressive tout au long de ce processus (Belova, 1993).

La température, l'azote et les activités microbiennes affectent taux de décomposition. Une augmentation de la température peut accélérer taux de décomposition (Hietz, 1992). Au début de la décomposition de la litière, lorsque la dégradation atteint son apogée, bactéries présentant à la fois des propriétés cellulolytique et xylanolytique (décompose le xylane, une substance gommeuse de la classe des pentosanes, présente dans les tissus ligneux) trouvé être

le plus abondant. *Pseudomonas spp.*, où la bactérie cellulolytique les plus abondantes (65–90% du total des isolats) au cours des cinq premiers mois, ces résultats suggèrent que *Pseudomonas* joue un rôle important dans au moins le stade initial de décomposition de la litière (Tanaka, 1993).

4. La biodégradation de feuille de roseau commun (*Phragmites australis* (Cav) Trin. Ex Steud) :

Les taux de dégradation microbienne sont fortement déterminés par la structure de la feuille et la composition chimique. Les composés solubles et labiles, tels que les sucres, les amidons et les protéines, sont utilisés en premier et leur concentration diminue rapidement (Dinka *et al.*, 2004). Ensuite, les matériaux récalcitrants, tels que la lignine, la lignocellulose, les cires de cellulose et les tanins, sont décomposés sur des périodes plus longues (Godshalk et Wetzel, 1978; Dinka *et al.*, 2004).

La cuticule de la feuille peut inhiber la pénétration de micro-organismes et entraîner la dégradation des détritux (Kerstiens, 1996). La cuticule est une substance cireuse et imperméable qui empêche la perte d'eau. Les cuticules sont épaisses pour beaucoup de plantes dans les milieux arides, mais la cuticule est mince pour certaines plantes en milieu aquatique, car la perte d'eau n'est pas un problème.

Cependant, la cuticule cireuse et les parois épaisses de l'épiderme créent une barrière contre les microbes et peuvent donc ralentir la décomposition.

Le rapport C/N peut indiquer que la décomposition microbienne est appropriée (Larcher, 1995), les matériaux ayant des rapports plus faibles (c'est-à-dire une teneur en azote plus élevée par unité de carbone) sont utilisés plus rapidement que ceux ayant des rapports C: N plus élevés, qui sont plus pauvres en azote (Godshalk et Wetzel, 1978; Smock et Harlowe, 1983).

Le rapport C/N change à mesure que la litière se décompose et diminue souvent lorsque l'azote augmente en raison de l'accumulation de biofilms microbiens et que le carbone diminue par suite de la minéralisation (Kelly et Jackson, 2002; Fellerhoff *et al.*, 2003).

Des facteurs abiotiques tels que la température de l'eau, l'oxygène dissous, le pH et la salinité peuvent également influencer sur le métabolisme et la colonisation microbiens et, à terme, sur les taux de décomposition. À des températures plus élevées, en oxygène dissous et en pH, la biomasse microbienne s'accumule beaucoup plus rapidement, facilitant ainsi la décomposition rapide de la matière foliaire (**Larcher, 1995**).

5. La dégradation de la matière lignocellulosique :

La biomasse lignocellulosique, appelée parfois biomasse, est constituée de trois composants majeurs: 40-60 % de la cellulose, 20-40 % de l'hémicellulose et 10-25 % de la Lignine.

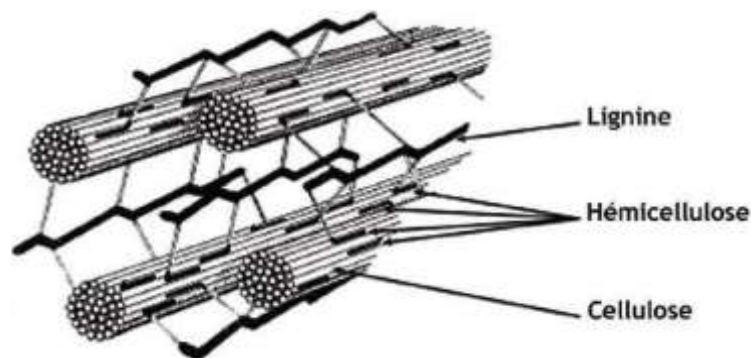


Figure 02 : Structure de la biomasse lignocellulosique (**Van parijs et al., 2010**).

5.1. La cellulose

La cellulose est le polysaccharide structural de base des parois des cellules végétales, qui peut représenter jusqu'à 50 % de la masse totale. Elle est la molécule organique la plus abondante sur terre, avec une production annuelle estimée à 1.5×10^{12} tonnes.

Elle constitue par ailleurs 18 à 33 % du matériel végétal des litières méditerranéennes, la cellulose est un polymère linéaire constituée d'unités β -D glucopyranose liées entre elles par des liaisons β -1, 4glycosidiques, sa formule chimique est $(C_6H_{10}O_5)_x$ (**Alarcón-Gutiérrez, 2007; Balat, 2011**).

Sa biodégradation est un des paramètres majeurs contrôlant le cycle du carbone sur terre, assurée par des microorganismes cellulolytiques sécrétant des cellulases (**Lekchiri *et al.*, 2006**).

5.1.1. Mode d'action de cellulase :

L'hydrolyse complète de la cellulose nécessite l'action synergique de trois types de cellulases (**Lynd *et al.*, 2002**). Elles sont classées en fonction de l'endroit où elles agissent au niveau de la fibre cellulosique. Les endoglucanases commencent l'hydrolyse, les exoglucanases agissent au niveau des extrémités générées par les endoglucanases, suivie par les β -glycosidases qui agissent sur le produit de catalyse des exoglucanases, pour libérer enfin des monomères de glucose (**Pimentel *et al.*, 2014**).

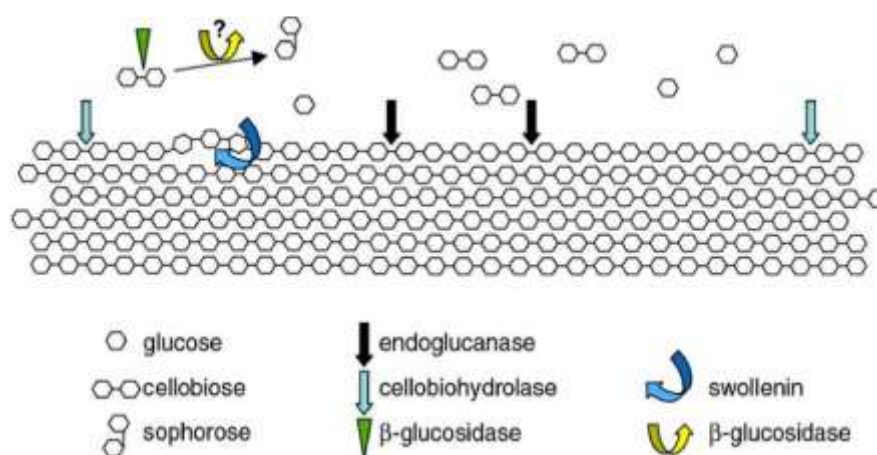


Figure 03: Enzymes de la dégradation de la cellulose (**Alarcón-Gutiérrez, 2007**).

5.2. L'hémicellulose

Les hémicelluloses sont des polymères de polysaccharides ramifiés à basse masse molaire (masse moléculaire moyenne < 30 000). L'hémicellulose est composée de résidus *B* (1,4) D pyranose, Les pyranoses peuvent être glucose, mannose ou xylose et les hémicelluloses sont alors appelées xyloglucanes, mannanes ou xylanes, respectivement.

Les feuilles contiennent environ 25 % de xylanes et 5 % de glucomannanes, les résineux contiennent environ 10 % de xylanes et 15 à 20 % de glucomannanes.

Les xylanes sont composés d'un squelette de résidus de Dxyloseunis en B(1,4), qui peut être substitué par des résidus de Dglucuronate en $\alpha(1,2)$. Cette molécule peut être Ométhyléen position 4; glucuronoxyane, par des résidus de Larabinose en $\alpha(1,2)$ ou $\alpha(1,3)$ (arabinoxylanes) ou par les deux (glucurono-arabinoxylanes) (**Chávez-Montes, 2010**).

❖ Les xylanases

Ces enzymes catalysent la rupture de la liaison glycosidique reliant deux résidus xyloses de la chaîne principale des xylanes, ce qui engendre une réduction du degré de polymérisation du substrat. Le xylane n'est pas aléatoirement hydrolysé mais les liaisons sélectionnées pour l'hydrolyse dépendent de la nature du substrat tel que la longueur de la chaîne, le degré de ramification et la présence de substituant (**Li et al., 2000**).

A un stade plus tardif, des petites molécules comme les mono-, di- et trisaccharides de β -Dxylopyranosyl sont produites. Bien que les endoenzymes agissent seulement au niveau des séquences ininterrompues, il existe des endoxylanases qui hydrolysent la chaîne principale seulement à proximité d'une région contenant une ramification.

Ces xylanases libèrent le substituant comme produit libre qui peut être nécessaire pour l'orientation du substrat dans le site actif. Certaines endoxylanases hydrolysent la chaîne principale après la libération de l'arabinose, ce qui explique l'existence d'endoxylanases débranchantes qui libèrent l'arabinose et des endoxylanases non débranchantes.

Les endoxylanases d'origine bactériennes et fongiques sont presque toutes des enzymes monomériques ayant une masse moléculaire comprise entre 8,5 à 85 kDa et un point isoélectrique qui varie entre 4,0 et 10,3 et la plupart de ces enzymes sont glycosylées (**Boucherba, 2011**).

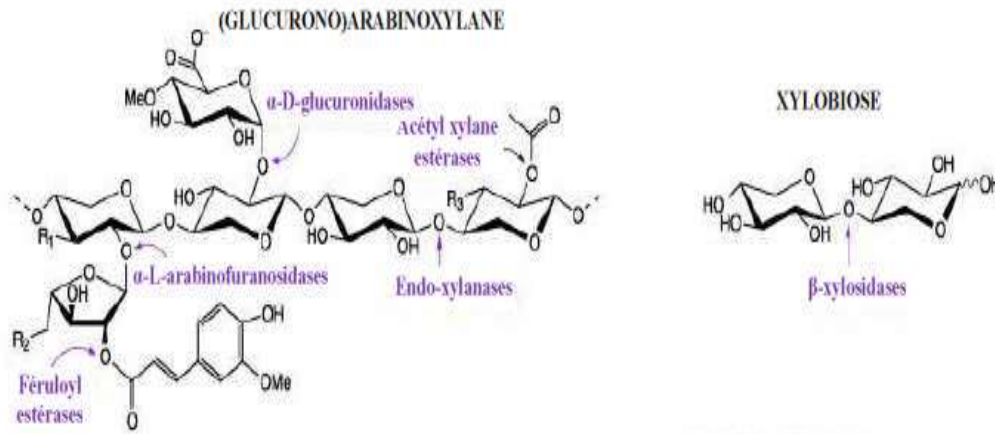


Figure 04: Action des principales hémicellulases nécessaires à l'hydrolyse des Glucurono-arabinoxylanes (Prevot, 2013).

5.3. La lignine

La lignine est le dernier composant principal de la lignocellulose, elle représente 15 à 30% de la matière organique. La lignine constitue la fraction non saccharidique la plus importante des fibres végétales. La molécule de la lignine est un complexe d'unités de phényl propane, formant une structure amorphe non soluble dans l'eau (Tahezadeh et Karimi, 2008).

Les lignines sont des polymères hautement condensés, formés par la déshydrogénation et la polymérisation de trois alcools à noyaux phénylpropane C₆-C₃ : les alcools trans-pcoumarylique, transconiférylique et transsinapylique. Elles s'incrument dans tout l'espace disponible dans les parois en association étroite avec les différents polysaccharides et confère aux parois végétales des propriétés d'imperméabilité et de résistance aux attaques microbiennes. La lignine constitue le principal obstacle à la disponibilité des glucides pour les microorganismes (Kögel-Knabner, 2002).

❖ Les ligninases

Les ligninases sont généralement des métallo-enzymes qui oxydent les phénols composant les chaînes ramifiées des lignines. Elles sont classées en deux catégories:

1- Les phénols oxydases ou laccases. Ce sont des oxydoréductases glycosylées à cuivre qui utilisent l'O₂ pour oxyder divers composés aromatiques et non aromatiques (**Prevot, 2013**).

2- Les peroxydases à hème:

* Les lignines peroxydases (LiP) ou diarylpropane peroxydases. Ce sont des glycoprotéines contenant un groupement hème et qui jouent un rôle crucial dans la biodégradation de la lignine. Elles catalysent la réaction générale, dépendante du H₂O₂, de dépolymérisation oxydante de composés non phénoliques.

* Les manganèse-peroxydases (MnP). Ce sont des glycoprotéines à groupe hémique qui dépolymérisent la lignine conjointement avec les lignines peroxydases. Elles catalysent la réaction, dépendante du manganèse,

*Les peroxydases versatiles (VP).Elles constituent un groupe d'enzymes capables d'oxyder le Mn (II) en Mn (III), comme les manganèse-peroxydases, mais présentent aussi les activités des lignines peroxydases.

I. Matériel végétal

L'espèce sélectionnée roseau commun (*Phragmites australis* (Cav) Trin. ex Steud) a été collectée le 01/03/ 2019 dans la région de Bouguirate, wilaya de Mostaganem. La partie de feuille de la plante est utilisée sécher après la séparation des différentes parties de la plante (figure 05).



Figure 05 : La partie de la plante utilisée.

II. Méthode

1. Enrichissement :

Préparation de la solution mère (0.5g de feuilles contaminé avec 50ml de bouillon nutritif) (figure 06).

Après la préparation de milieu minéral on été versé sur trois flacons contenant comme suivant :

1^{ier} flacon : 150 ml de MM + 0.2g de feuille sèche +1ml de suspension bactérienne

2^{émé} flacon : 150ml de MM+ 0.2g de feuille sèche.

3^{émé} flacon : 150ml de MM +1ml de suspension bactérienne (figure 07)

Après on le met dans un agitateur pendant 3 mois et nous avons mesurées leur densité optique a chaque semaine.



Figure06 : Culture bactérienne après l'agitation pendant 24h.



Figure 07: Les trois différentes cultures

2. Préparation des dilutions :

Une série de dilutions décimales est réalisée à partir d'échantillon. 1 ml de solution mère est ajouté dans 9 ml d'eau distillé stérile. On Obtient ainsi une dilution mère de 10^{-1} à partir de laquelle on réalise des dilutions décimales Jusqu'à 10^{-6} (**figure 08**).



Figure 08 : Les dilutions décimales de culture bactérienne.

3. L'isolement des microorganismes :

On prélève 0.1ml des dilutions préparé (10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}) qu'on ensemence par étalement sur la surface de boîte de pétri contenant le milieu solide (GN) à l'aide d'une pipette râteau et incubé à 37°C pendant 24h

4. Purification

Après 24h d'incubation, on obtention des souches diversifiées, la purification qui mène à des cultures pures s'effectue par repiquage successif des colonies prélevées et puis ensemencées par méthode de stries.

La sélection des colonies est basée sur l'aspect macroscopique des colonies à savoir la couleur, la forme, le diamètre, l'opacité (**Delarras, 2007**).

5. Identification des isolats :

5.1. Etude morphologique :

5.1.1. Etude macroscopique :

L'observation macroscopique des colonies permet d'effectuer une première caractérisation (La forme, la taille....) des colonies ont été déterminées après croissance sur milieu GN solide après une incubation de 24h à 37°C.

5.1.2. Etude microscopique :

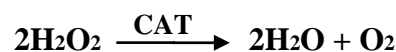
Coloration de gram :

C'est une double coloration qui nous permet de connaître la forme, l'arrangement, la pureté ainsi que la nature biochimique de la paroi des cellules purifiées. Cette coloration est réalisé systématiquement sur les différentes colonies purifiés pour préciser le caractère Gram+ ou Gram- Avec cette coloration double, les bactéries Gram positive apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries Gram négatives sont colorées en rose ou en rouge (**Delarras, 2008**).

5.2. Etude biochimique :

5.2.1. Recherche de catalase :

La catalase est une enzyme qui dégrade l'eau oxygénée en eau et oxygène, La présence d'une catalase est révélée immédiatement par des bulles de gaz qui correspondent à l'oxygène dégagé (**Marchal et Bourdon, 1982**).



Nous apportons une lame stérile et ajoutons deux gouttes de H₂O₂ puis mettons la colonie dans H₂O₂ et mélangeons bien.

5.2.2. Mannitol- mobilité

C'est une gélose molle conditionnée en tubes qui permet d'étudier la fermentation du mannitol et la mobilité des bactéries.

L'ensemencement a été réalisé par piqûre centrale jusqu'au fond des tubes à l'aide d'une pipette Pasteur. La fermentation du mannitol se matérialise par un virage du milieu au jaune. Les bactéries mobiles diffusent à partir de la ligne d'ensemencement, créant un trouble dans le milieu alors que les bactéries immobiles poussent uniquement le long de la strie d'ensemencement (Gerhardt *et al.*, 1994).

5.2.3. Test d'amylase

Le but de ce test est de rechercher l'hydrolyse de l'amidon par l'amylase, afin de voir si la bactérie est capable ou non de dégrader l'amidon.

Ce test a été réalisé en cultivant la souche sur une gélose nutritive contenant 1% d'amidon. Après avoir obtenue une bonne culture bactérienne, la gélose a été recouverte d'une solution de lugol. L'hydrolyse de l'amidon est ainsi mise en évidence par l'apparition d'une zone claire autour de la colonie, par contre un résultat négatif se traduit par une couleur brune autour de la culture (De vos *et al.*, 2009).

Après incubation les boîtes de pétri sont inondées avec une solution de lugol et l'activité amylolytique est évaluée par les zones d'hydrolyse formées autour de la colonie ensemencée par strie (Wisdomkofi *et al.*, 2006).

5.2.4. Plaque API 20E :

Les autres tests biochimiques : recherche de la β -galactosidase (ONPG), de l'ornithine décarboxylase (ODC), de la lysine décarboxylase (LDC) et de l'arginine dihydrolase (ADH), production d' H_2S , utilisation du citrate, production d'indole et réaction de Voges Proskauer, liquéfaction de la gélatine et la dégradation des sucres ont été réalisés en utilisant la plaque **API 20E**.

La galerie **API 20E** comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne réalisée dans l'API médium qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation de 24 heures à 30°C se traduisent par des virages de couleur spontanés ou par l'addition des réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique (**Biomérieux, 2006**).




























Microtube	Substrat :	Caractère recherché	Révélateur	Lecture directe ou indirecte Test (si nécessaire)	Résultat -	Résultat +
ONPG	ONPG = Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	Béta galactosidase		Lecture directe		
ADH LDC ODC	Arginine Lysine Ornithine	Arginine Dihydrolase Lysine Décarboxylase Ornithine Décarboxylase	Rouge de phénol	Lecture directe		
CIT	Citrate	Utilisation du citrate	BBT	Lecture directe		
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Fe III	Lecture directe		
URÉ	Urée	Uréase	Rouge de Phénol	Lecture directe		 
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase		Lecture indirecte		 
IND	Tryptophane	Tryptophanase ou production d'indole		Lecture indirecte	 	 
VP	Pyruvate de sodium	production d'acétoine (3-hydroxybutanone)		Lecture indirecte		 
GEL	Gélatine	gélatinase	Particules de charbon	Lecture directe		
GLU à ARA = zymogramme	Substrat carboné (glucide)	Utilisation de substrats carbonés (glucides)	BBT	Lecture directe		
NO ₂ /N ₂	Nitrates (NO ₃ ⁻)	Nitrate réductase		Lecture indirecte		

Figure 09: La lecture de galerie API 20E (<http://BioMérieux/système API®>).

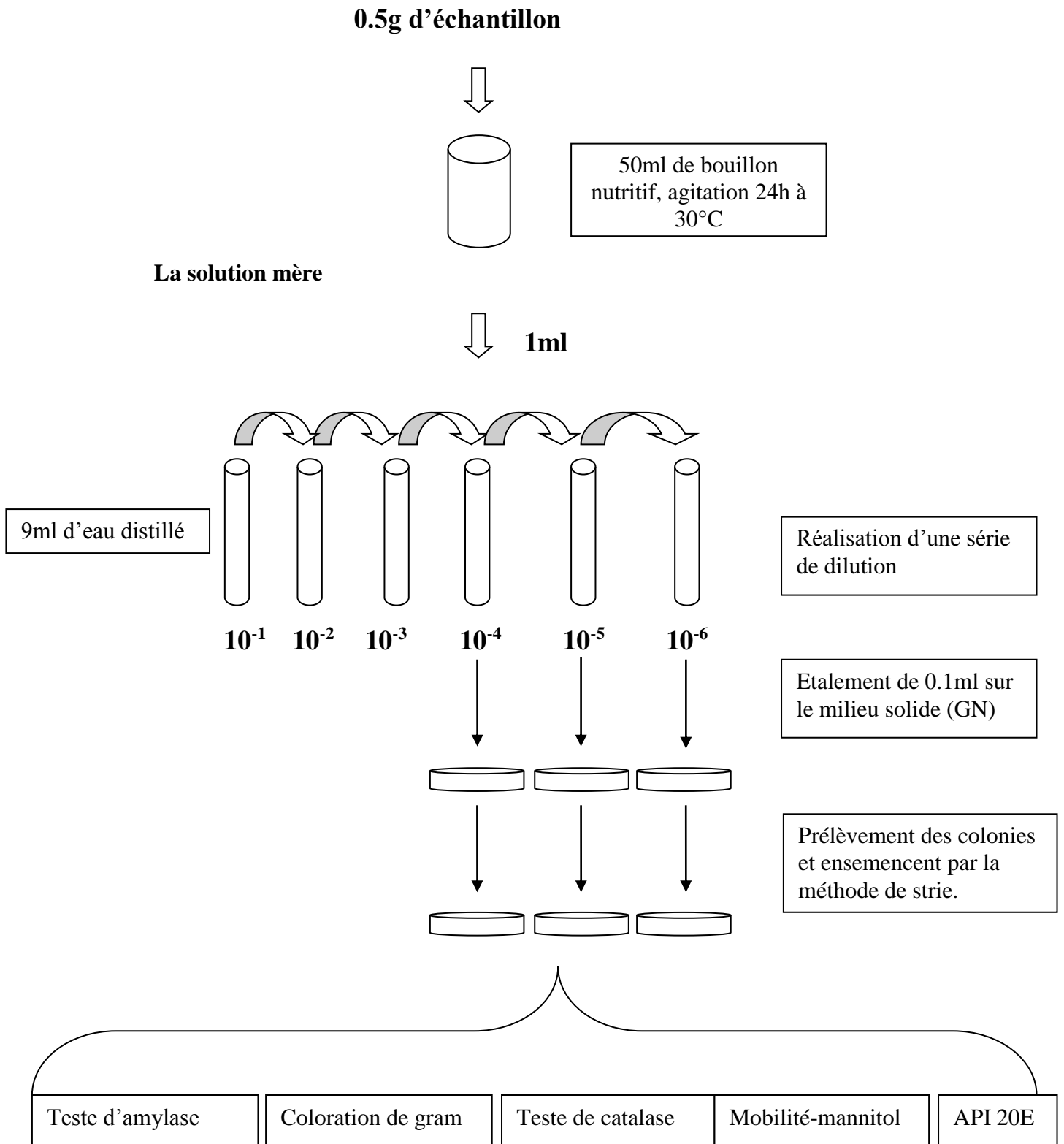






Figure 10: Schéma représenté les étapes d'isolement et l'identification bactérienne

Chapitre IV : Résultats et Discussions

1. Etude morphologique :

L'isolement a été effectué sur le milieu solide (GN), L'observation macroscopique a montré que les colonies ayant une forme plate, à une taille petite et moyenne de contour régulier

Tableau 05 : Aspect macroscopique des colonies sur le milieu GN solide.

Isolats	C1	C2
Contour	Régulière	Régulière
Couleur	Blanchâtre	Transparent
Taille	Moyenne	Petite
Aspect macroscopique		
		


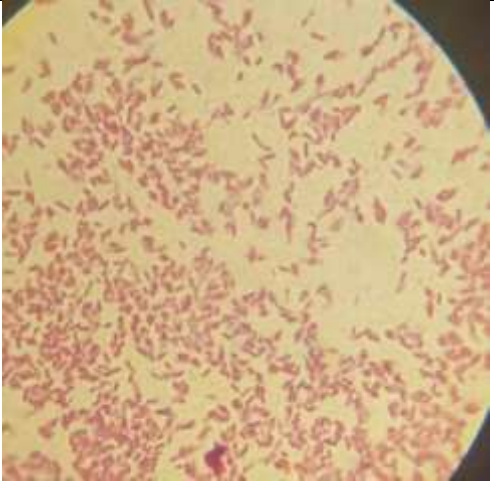
I.2. Identification :

L'identification des souches isolées a porté sur l'étude des caractères morphologiques, biochimiques. Les caractères cultureux et la morphologie cellulaire des isolats sont présentés dans les **tableaux 05 et 06**

I.2.1. Observation microscopique

D'après les résultats qui ont obtenue par nos observations microscopique, il ressort que les bactéries isolées a partir de notre échantillon sont présentent 2 différentes formes : bacille, petite bacille avec une paroi de type négative.

Tableau 05: Aspect macroscopique de l'ensemencement des isolats sur GN après purification.

Isolats	C₁	C₂
Gram (+/-)	-	-
Aspect microscopique	Bacille	Petite bacille
Observation microscopique		

I.2.2. Etude biochimique :

Les résultats des différents caractères biochimiques de deux souches testées sont réunis dans le **tableau 06** :

1. Recherche de catalase :

L'activité catalytique de catalase permet la dégradation de l'eau oxygénée en oxygène et en eau, par la mise en contact des colonies avec quelques gouttes d'eau oxygénée.

Selon les résultats qui on a obtenus on a détecté une catalase positive chez les deux souches.

2. Test d'amylase







Selon les résultats qui on a obtenus dans notre expérience on a observé un éclaircissement autour de strie indiqué que les deux souches ont été capables de dégrader l'amidon.

3. Mannitol-mobilité :

La dispersion des bactéries dans le milieu mannitol mobilité, révèle que les deux isolats sont mobiles et peuvent se déplacer dans la gélose molle du milieu utilisé.

L'absence de dégradation du mannitol révèle que les deux isolats sont mannitol négatif(-).

Tableau 06 : Les résultats des tests biochimiques.

Teste Colonies	Teste Catalase (+/-)		Teste amylase (+/-)		Mannitol-mobilité (+/-)	
C ₁	+		+		MAN-/ Mobile	
C ₂	+		+		MAN-/ Mobile	

(+) : Test positive ;(-) : Test négative

I.2.3. Identification API20E :

Le principe de l'identification de la galerie API est le même que celui de la méthode enzyme/substrat. Chaque cupule contient un substrat différent avec lequel chaque enzyme bactérienne réagit.

Après une incubation à 37°C pendant 24h, les résultats obtenus sont réunies dans les **tableaux 07 et 08** :

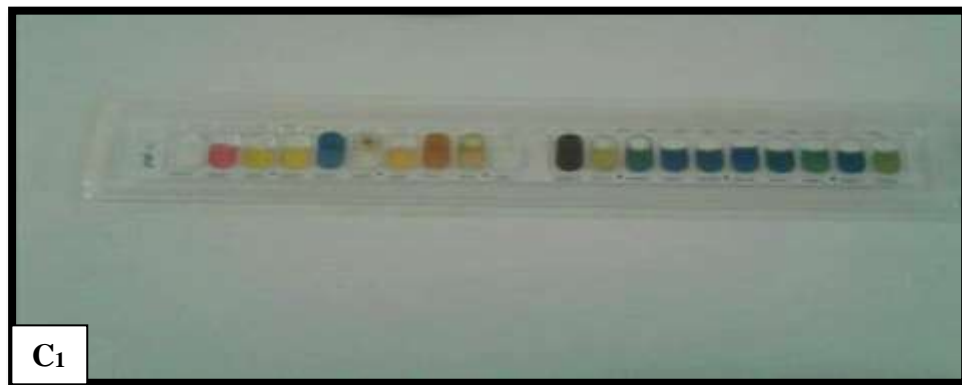


Figure 11 : La galerie API20 E après l'incubation pour la première souche.

Tableau07 : Les résultats de galerie API 20E pour la souche C1

ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP
-	+	-	-	+	-	-	-	-	-
GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMI	ARA
+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

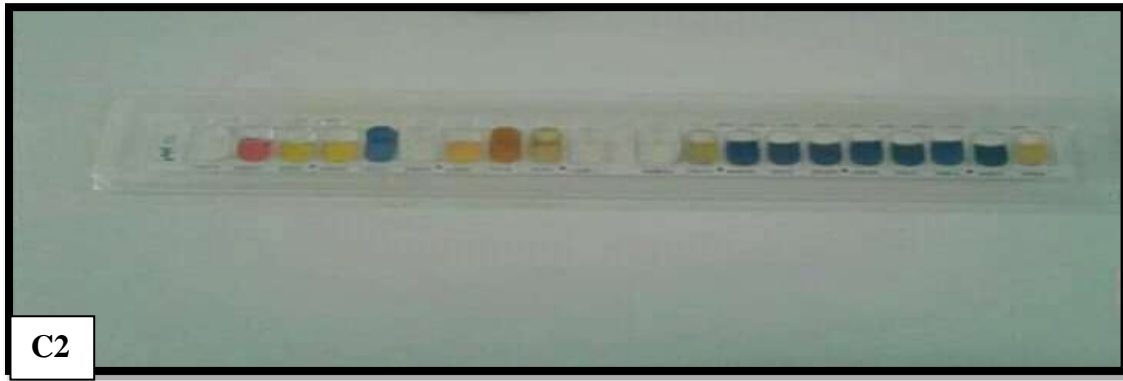


Figure 12 : La galerie API20E après incubation pour la deuxième souche

Tableau 08 : Les résultats de galerie API 20E pour la souche C2

ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP
-	+	-	-	+	-	-	-	-	-
GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
-	+	-	-	-	-	-	-	-	+

Ces bactéries ont un caractère aérobic strict, ADH et citrate et glucose sont positif pour les deux isolats, et l'hydrolyse de gélatine positive pour la première souche, et arabinose pour la deuxième souche, et résultats de β-galactosidase (ONPG), lysine décarboxylase (LDC), de l'ornithine décarboxylase (ODC), production d'H₂S, production d'indole et réaction de Voges Proskauer (VP), la fermentation de mannitol, l'uréase, Tryptophane désaminase, négative pour les deux souches.

Une identification biochimique par les galeries API 20E (tableau 07 et 08) a permis de différencier ces souches bactériennes et de les identifier au tant que : *Pseudomonas aeruginosa* (C1) et *Pseudomonas putida* (C2).

I.3. La formation de biofilm :

Un biofilm est généralement défini comme une communauté de microorganismes adhérant à une surface, et marquée par la sécrétion d'une matrice de polysaccharides adhésive et protectrice. Cette organisation constitue le mode de croissance préféré des bactéries (Hiernaux, 2005). Les bactéries représentent une biomasse cellulaire très variable au sein du biofilm.



Figure 13 : La formation d'un biofilm sur la surface de feuille de roseau

Après trois mois d'agitation, nous avons observés :

- La formation de biofilm a la surface de feuille
- Les feuilles perdent plus de 70 % de leurs poids initiaux ($P_0 = 0.2g$, $P_f = 0.183g$)
- La mesure de la perte de masse de notre échantillon est une indication de leur biodégradation

I.4. La mesure de la turbidité

La croissance bactérienne a été suivie par mesure de la DO par spectrométrie à une longueur d'onde de 600nm pendant 13 semaines.

Tableau 09 : Les résultats de la DO pendant 13 semaines.

flacons Semaines	F ₁	F ₂	F ₃
	SB	Fe	SB +Fe
1	0.102	0.127	0.245
2	0.112	0.137	0.266
3	0.117	0.160	0.273
4	0.115	0.169	0.282
5	0.128	0.168	0.343
6	0.135	0.200	0.352
7	0.158	0.202	0.362
8	0.175	0.214	0.393
9	0.246	0.206	0.365
10	0.183	0.280	0.414
11	0.179	0.246	0.550
12	0.117	0.224	0.670
13	0.114	0.203	0.735

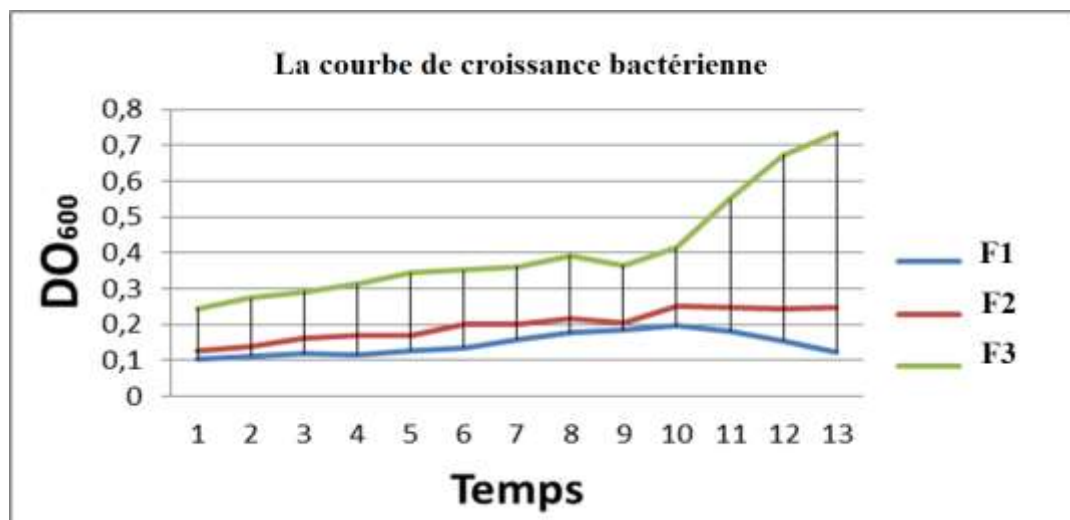


Figure 14 : La courbe de croissance bactérienne.

Ce graphe représente la croissance bactérienne (Abs) en fonction du temps (Semaine) de trois différentes cultures.

Selon les résultats obtenus dans notre expérience on a détecté que les valeurs du DO de notre culture sont augmenté progressivement sur F₃ que F₂ et F₁, cette augmentation correspond la forte croissance de culture bactérienne (la phase exponentielle) qui former la biofilm sur la surface au cours de laquelle sont capable d'utilisé les matériaux résultats de la dégradation des feuilles pendant les semaines d'incubation.

Les micro-organismes se divisent, pour former dans un premier temps des micro-colonies. À partir d'une concentration suffisamment dense d'individus, les micro-colonies sécrètent des bio-polymères formant ainsi le biofilm. Ce dernier se développe puis s'épaissit jusqu'à devenir macroscopique (**Flemming, 2007**).

L'absence de phase latence démontre une adaptation plus rapide des souches étudiées aux sources de carbone utilisée (les feuilles mortes)

Par ailleurs, on a une croissance plus lente de F₂ qui contient les feuilles non stérile, cette augmentation montre que ces feuilles contiennent des bactéries sur la surface. Par contre, dans le milieu ne contenant que la suspension bactérien, il ya une croissance pour quelque semaine car la bactérie utilisé les nutriments trouvé dans le milieu.

II. Discussion :

Dans cette présente étude deux microorganismes ont été isolées et considérées comme dominantes par l'application de la technique d'enrichissement, à partir de les feuilles de roseau contaminé, afin d'étudier la capacité des isolats à dégrader et à utiliser les feuilles mortes comme source de carbone et d'énergie.

La dégradation des feuilles de roseau est observée par augmentation significative de la concentration bactérienne des deux souches, l'identification morphologique et biochimique des souches a montré que les deux souches de genre *Pseudomonas ssp.*

Pseudomonas aeruginosa est un bacille à Gram négatif, strictement aérobie, omniprésente dans l'environnement. Elle est très mobile grâce à la présence de plusieurs flagelles polaires, la grande capacité d'adaptation de *P. aeruginosa* à différents environnements est une propriété qui lui est propre et particulière.

Ces bactéries ont la capacité de dégrader des composés complexes, tels que les protéines et les polysaccharides complexes comme l'amidon, la cellulose (**Palleroni, 1984**).

Pseudomonas putida est une bactérie gram négative qui se trouve couramment dans les sols et les milieux aquatiques (**Pardo et Guadalix, 1996**). Cette bactérie possède également de multiples flagelles polaires pour la motilité. *Pseudomonas putida* joue un rôle important dans la décomposition ainsi que dans le recyclage des éléments nutritifs et des substances organiques (**Timmis, 2002**).

Le biofilm s'est formé relativement rapidement sur la surface de feuilles, ces changements correspondent à la croissance de microbes attachés au roseau. La perte de poids après 3 mois montre que ce genre bactérie capable de dégradation les feuilles de roseau.

Cette étude a révélé que la formation d'un biofilm sur la surface du *Phragmites australis* est un processus rapide seulement une semaine pour atteindre la biomasse. Lorsque le milieu riche en nutriments accéléré la croissance des bactéries attachées sur la surface (**Ayami et al., 2009**)

Cette dernière est expliquée par l'hydrolyse des matériaux de haut poids moléculaire comme la cellulose, la lignine et les matériaux polymères présent ou introduits dans la litière de feuilles , et par l'assimilation et la transformation des matières organiques facilement biodégradables (oligomères et monomère) en CO_2 et H_2O .

Conclusion

Dans ce présent travail, l'isolement à partir d'échantillon de feuilles contaminé de roseau prélevé de la région de Bouguirat, Les testes de biodégradation ont été effectués sur un milieu minéral additionné avec des feuilles de roseau séché et suspension bactérien, la formation de biofilm correspond la croissance de bactérie dans le milieu montre que la biodégradation de feuilles dans des conditions favorable sur une période d'environ trois mois

L'identification morphologique et biochimique des bactéries isolées a montré que des deux différentes souches à gram négative et catalase positive. L'utilisation de galerie API20E a révélé que les deux souches de genre *Pseudomonas*

Parmi les espèces des *Pseudomonas* on a réussi à isoler : *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*,

Enfin, notre étude ne représente qu'un début à des études plus approfondies pour plus de performance.

Liste des Références

- **Afnor N, (2005).** Matériaux biodégradables pour l'agriculture et l'horticulture - Produits de paillage - *Exigences et méthodes d'essai*.
- **Ait Ali N, Bernal MP, Ater M, (2004).** Tolerance and bioaccumulation of cadmium by *Phragmites australis* grown in the presence of elevated concentrations of cadmium, copper, and zinc. *Aquatic Botany*. 80, 163-176.
- **Alarcón-Gutiérrez. E, (2007).** Influence de facteurs abiotiques sur la régulation des paramètres microbiens impliqués dans la dégradation de la matière organique d'une litière forestière méditerranéenne. *Thèse de Doctorat .université Paul Cézanne. Aix-marseille III. France.* 241.
- **Asaeda T, Rajapakse L, Manatunge J, Sahara N,(2006).** The effect of summer harvesting of *Phragmites australis* on growth characteristics and rhizome resource storage. *Hydrobiologia*. 553,327-335.
- **Ayami H, Yuki T, Yasuaki F, Tatsuya Y, Andi K, and Hisao M, (2009).** Analysis of How a Biofilm Forms on the Surface of the Aquatic Macrophyte *Phragmites australis*. *Microbes Environ*. 24(3), 265–272.
- **Balat. M, (2011).** Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review. *Energ. Conver. Manag.* 52. 858–875.
- **Baran M, Váradyová Z, Krácmár S, Hedbávn J,(2002).** The Common Reed (*Phragmites australis*) as a Source of Roughage in Ruminant Nutrition. *ACTA VET. BRNO*. 71, 445-449.
- **Begon M, Harper JL, Townsend CR, (2005).** An introduction to the ecological relations between organisms and their environments at the ecosystem and community levels of organization. *Blackwell Publishers, Oxford UK*, 1068p.
- **Belova M, (1993).** Microbial decomposition of freshwater macrophytes in the littoral zone of lakes. *Hydrobiologia* 251: 59–64.
- **Belzile F, JLabbé M. C, Le Blanc et C Lavoie, (2010).** Seeds contribute strongly to the spread of the invasive genotype of the common reed (*Phragmites australis*). *Biological Invasions*, 12:2243–2250.
- **Biomérieux, (2006).** *Applications Bio Pharmaceutiques.* Http : www.biomerieux.fr/servlet/srt/srt/bio/france/dyn

- **Björk S, (1967).** Ecological investigations of *Phragmitescommunis*: studies in theoretic and applied limnology. *Folia Limnol. Scand.* 14: 1–248
- **Boucherba N, (2011).** Production, purification et caractérisation d'une endoxylanase produite par une souche de *Jonesiadenitrificans*. *Thèse de doctorat*. Université A.MIRA BEJAIA. Algérie .181.
- **Bonanno G,(2013).**Comparative performance of trace element bioaccumulation and biomonitoring in the plant species *Typhadomingensis*, *Phragmitesaustralis*and *Arundodonax*. *Ecotoxicology and Environmental safety*. 97, 124-130.
- **Boutin A, et Poulin M,(2013).**Projet pilote de restauration du marais Miller phase I (2012-2013). Extrait du rapport final présenté au Ministère des Ressources naturelles et de la Faune. *1er édition, Laval, Éco-Nature*, 88 p.
- **Brink M, Achigan-dako EG,(2012).** Plant Resources of Tropical Africa 16. Fibres. *EconomicBotany*. 66 (3), 312-313.
- **Brisson J,(2014).***Roseau commun, monde végétal* 1^{er} édition, Québec, *Institut de recherche en biologie végétale*, 71 p.
- **Cavalaglio G, Cotana F, Pisello AL, Gelosia M, Ingles D, Pompili E, (2015).** Sustainable Ethanol Production from Common Reed (*Phragmitesaustralis*) through Simultaneous Saccharification and Fermentation. *Sustainability*. 7(9), 12149-12163.
- **Chambers R M, L A Meyerson et K Saltonstall,(1999).**Expansion of *Phragmitesaustralis*into tidal wetlands of North America. *Aquatic Botany*, 64(3-4), 261-273.
- **Chapin FS, Matson, Pamela A,Mooney, Harold A, (2002).** Principles of Terrestrial Ecosystem Ecology. *Springer-Verlag, New York*.
- **Chávez-Montes R A, (2010).** Caractérisation de mutants et transformants d' α -L-arabinofuranosidase chez *Arabidopsisthaliana*. *Thèse de doctorat*. Université de Toulouse III-PaulSabatier. France. 135.
- **Clayton WD, (1967).** Studies in the Gramineae: XIV. *Kew Bulletin*. 21 (1),111-117.
- **Clevering O, and Lissner J,(1999).** Taxonomy, chromosome numbers, clonal diversity and population dynamics of *Phragmitesaustralis*. *Aquatic Botany*. 64: 185–208.
- **Connor H E, Dawson M I, Keating R D and Gill L S, (1998).** Chromosome numbers of *Phragmitesaustralis*(Arundineae:Gramineae) in New Zealand. *N.Z. J. Bot.* 36: 465–469.

- **Cummins K W, Koffman W P, et Roffp A, (1966).** Trophic relationships in a small woodland stream. *Verh. Internat. Verein Limnol.*, 16, 627-638.
- **De vos P, G M Garrity, D Jones, N R Krieg, W Ludwig, F A Rainey, K H Schleifer et W B Whitman, (2009).** Bergey's manual of systematic bacteriology (2 ed., Vol. III). *Springer Dordrecht Heidelberg London New York*, p1422.
- **Delarras C, (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de controle sanitaire. Paris: Lavoisier.
- **Delerass C, (2008).** Pratique en microbiologie de laboratoire : recherché de bactéries et de levures-moisissuures. *Edition la voisier, Paris*, p 146-147.
- **Dinka M E, Ágoston-Szabó and ITóth, (2004).** Changes in nutrient and fibre content of decomposing *Phragmites australis* litter. *International Review of Hydrobiology* 89:519-535.
- **Fellerhoff C M, Voss and K M Wantzen, (2003).** Stable carbon and nitrogen isotope signatures of decomposing tropical macrophytes. *Aquatic Ecology* 37:361-375.
- **Fisher S G, and G E Likens, (1973).** Energy flow in Bear Brook, New Hampshire: an integrative approach to stream ecosystem metabolism. *Ecol. Monogr.*, 43, 421-439.
- **Flemming H C, Neu T R, Wozniak D J, (2007).** The EPS matrix: The house of biofilm cells, *Journal of bacteriology* 189 (22) pp 7945-7947.
- **Gerhardt P, Murray R G E, Wood W A and Krieg N R, (1994).** Methods for General and Molecular Bacteriology. *Washington DC, ASM, USA*.
- **Gervais C, Trahan R, Moreno D, and Drolet A M, (1993).** Le *Phragmites australis* au Québec: distribution géographique, nombres chromosomique et reproduction. *Can. J. Bot.* 71: 1386–1393.
- **Gessner MO, Swan CM, Dang CK, McKie BG, Bardgett RD, Wall DH, Hättenschwiler S, (2010).** Diversity meets decomposition. *Trends in Ecology and Evolution*, 25: 372-380.
- **Giudice RL, Bonanno G, (2010).** Heavy metal bioaccumulation by the organs of *Phragmites australis* (common reed) and their potential use as contamination indicators. *Ecological Indicators*. 10,639-645.
- **Godshalk G L, and R G Wetzel, (1978).** Decomposition in the littoral zone of lakes. In: Good, R.E., Whigham, D.G., Simpson, R.L (eds.), *Freshwater Wetlands: Ecological Processes and Management Potential*. *Academic Press, New York, New York*. pp. 131-143

- **GraçasMaS, Bärlocher F, ET Gessner MO,(2005).**Methods to Study Litter Decomposition: a Practical Guide. *Springer*.
- **Gumbricht T, (1992).** Tertiary wastewater treatment using the root-zone method in temperate climates. *Ecol. Eng.* 1: 199–212.
- **Haslam S M,(1972).***Phragmites communis*Trin. (*Arundo phragmites* L.,? *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudel). *Journal of Ecology*, 60(2), 585-610.
- **Hiernaux. P, (2005)** Contribution de la fraction minérale des eaux au développement et à la structure des biofilms: Apport des méthodes microscopiques et spectroscopiques, *Thèse del'université de Poitiers*.
- **HietzP, (1992).** Decomposition and nutrient dynamics of reed (*Phragmitesaustralis*(Cav.) Trin. Ex Steud.) Litter in Lake Neusiedl, *Austria. AquaticBotany.* 43: 211–230.
- **Hocking P J, (1989).** Seasonal dynamics of production, and nutrient accumulation and cycling by *Phragmitesaustralis*(Cav.) Trin. exStuedel in a nutrient-enriched swamp in Inland Australia. I. Whole Plants. *Marine and Freshwater Research*, 40(5), 421-444.
- **Kadi SA, Ouendi M, Slimani M, Selmani K, Bannelier C, Berchiche M, Gidenne T, (2012).**Nutritive value of common reed (*Phragmitesaustralis*) leaves for rabbits. *Nutrition.* 513 – 517.
- **Karathanos S,(2014).** Les approches de gestion du roseau commun envahissant (*Phragmites australis ssp. Australis*) le long du Saint-Laurent. *Revue de littérature, Université de Montréal, Montréal, Québec*, 40 p.
- **Kelly R H, and J D Jackson,(2002).** Leaf litter decomposition in a karst lake (Chaney Lake, Kentucky, USA). *Hydrobiologia*482:41-47.
- **Kerstiens G,(1996).**Signalling across the divide: a wider perspective of cuticular structure-function relationships. *Trends in Plant Science* 1(4):125-139.
- **Kleche M, Berrebbah H, Grara N, Bensoltane S, Djekoun M, Djebar MR, (2013).** Phytoremediation using *Phragmitesaustralis*roots of polluted water with metallic trace elements (MTE). *Annals of BiologicalResearch.* 4 (3), 130-133.
- **Kleche M, (2013).** «Utilisation des systèmes biologiques dans l'épuration des eaux usées cas de la région d'Annaba »*Thèse doctorat université de Annaba*.
- **Köbbing JF, Thevs N, Zerbe S, (2014).**The utilisation of reed (*Phragmites australis*): a review. *Mires and Peat.* 13, 1-14.

- **Kögel-Knabner I, (2002).** The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil Biology & Biochemistry*. 34. 139-162.
- **Larcher W,(1995).** Physiological Plant Ecology, Third Edition. *Springer-Verlag, New York, New York*.
- **Lavoie C,(2008).** *Le roseau commun (Phragmites australis):une menace pour les milieux humides du Québec ?Rapport remis au Comité interministériel du Gouvernement du Québec sur le roseau commun et à Canards Illimités Canada*, 44 p.
- **Lekchiri S, Moueqqit M, Lekchiri A, (2006).** Mise en évidence d'une activité cellulase chez *Fusariumoxysporumf.spalbedinis* induite par une nouvelle forme d'hydrocellulose purifiée. *Faculté des Sciences, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Mohamed Ier, Oujda, Maroc*.
- **Lelong B, Lavoie C, Jodoin Y, Belzile F, (2007),** Expansion pathways of the exotic common reed (*Phragmitesaustralis*): A historical and genetic analysis. *Diversity and Distribution* 13: 430-437.
- **Li K C, Azadi P, Collins R, Tolan J, Kim J S, Eriksson K E L, (2000).** Relationships between activities of xylanases and xylan structures. *Enzyme Microb Technol.* 27(2). 89–94.
- **Löve A, and Löve D, (1961).** Chromosome numbers of central and north-west European plant species. *Op. Bot. Soc. Bot. Lund*.5: 1–581.
- **Lynd L R, Weimer P J, Van-Zyl WH, Pretorius I S, (2002).** Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 66(3), 506-739.
- **Mal T K, et LNarine, (2004).**The biology of Canadian weeds. 129. *Phragmites australis (Cav.) Trin.ex Steud. Canadian Journal of Plant Science*, 84(1), 365-396.
- **Marchelet Bourdon, (1982).** Application of molecular methods as a biomarker in bioremediation studies. *International Journal of Biotechnology Applications*. 5(1): 147-154.
- **Marnotte P, Carrara A, Dominati E, Girardot F, (2006).** Les plantes des rizières de Camargue *.Editions Quaé*, 33 p.
- **Meyerson L A, K Saltonstall, L Windham, E Kiviatand S E G Findlay,(2000).** A comparison of *Phragmitesaustralis* in freshwater and brackish marsh environments in North America. *Wetl. Ecol. Manage*, 8, 89-103.

- **Meyerson L A, Viola D V and Brown R N, (2010).** Hybridization of invasive *Phragmitesaustralis* with a native subspecies in North America. *Biological Invasions*, 12, 103–111.
- **Muthanna JA, (2017).** Application of raw and activated *Phragmitesaustralis* potential adsorbents for wastewater treatments. *Ecological Engineering*. 102, 262-269.
- **NezhaTahriJoutey, WifakBahafid, HananeSayeland Naïma El Ghachtouli, (2014).**Biodegradation: Involved Microorganisms and Genetically Engineered Microorganisms.Additional information is available at the end of the chapter <http://dx.doi.org/10.5772/56194>.
- **Pardo M T, and Guadalix M E,(1996).** Zinc sorption-desorption by two anepts: effect of pH and support medium. *European Journal of Soil Science*, 47(1), 257–263.
- **Paul J, Kirk H and Freeland J, (2011).** Genetic diversity and differentiation of fragmented reedbeds (*Phragmitesaustralis*) in the United Kingdom. *Hydrobiologia*, 665, 107–115.
- **Pazourkova Z, (1973).** Caryology of some forms of *Phragmitescommunis*Trin. S. Hejny, ed. *Ecosystem study on wetland biome in Czechoslovakia, Czechosl. IBP/PT-PP, Rep. No. 3: Trebon*. Pages 147–149
- **Perez A,(2011).***Le roseau commun (Phragmites australis) influence-t-il la composition spécifique et le développement larvaire d’amphibiens ? Mémoire, Université de Laval, Québec, Québec*, 165 p.
- **Philippeaux J,(2013).** Etude de la biodégradation de polymères biodégradables. *Rapport de stage IUT Nîmes – Ecole des Mines d’Alès*
- **Pimentel PSS, Lima de Souza A, Rosas Nascimento A T, Vaz de Andrade E, AstolfiFilho S, Silva-Nunes C G, (2014).**Endo and exoglucanases produced by *Penicillium Citrinum* isolated from Amazon. *BMC Proceedings*.8.179.
- **Piriou J Y, Coic D, Merceron M, Drévès L, Chaussepied M, (2001).** Abattement de l'azote par le marais côtier de Kervigen et potentiel breton. Éd., *Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer, Colloque, Ifremer, A., 1999. N° 24, France*, P 275 287.
- **Prevot V, (2013).**Comparaison de la production de complexes enzymatiques par fermentation en milieu solide et par fermentation en milieu liquide. *Thèse de doctorat. Université de Reims Champagne-Ardenne. France*.159p.

- **Palleroni N J, (1984).** Genus I. *Pseudomonas* Migula. In: Krieg, N.R., Holt, J.G.(Eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Williams and Wilkins Co, Baltimore, USA, vol. I. pp. 141–171.
- **Quezal P, Santa L, (1962-1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionale. *Edition CNRS, tome 2. Paris.* 170p.
- **Raicu P, Staicu S, Stoian V, and Roman T, (1972).** The *Phragmites communis* Trin., chromosome complement in the Danube Delta. *Hydrobiologia*, 39, 83–89.
- **Rayanal –Roques A, (1994).** La botanique redécouverte. *Ed., Belin-INRA, France, P* 253 254.
- **Rodwell J S, (1998a).** British Plant Communities: Woodlands and Scrub. *Cambridge University Press, Cambridge, UK.* 1.
- **Smock L A, and K L Harlowe, (1983).** Utilization and processing of freshwater wetland macrophytes by the detritivores *Asellus-forbessi*. *Ecology* 64:1556-1565.
- **Swearingen J, and Saltonstall K, (2010).** *Phragmites* field guide: distinguishing native and exotic forms of common reed (*Phragmites australis*) in the United States. *Weeds Gone Wild, Plant Conservation Alliance, Washington, DC, USA.* Available at: <http://www.nps.gov/plants/alien/pubs/index.htm> (accessed 28 June 2015).
- **Taherzadeh M J, Karimi K, (2008).** Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: A review. *International. J. Molecular .Scien.* 9. 1621–1651.
- **Tanaka Y, (1993).** Aerobic cellulolytic bacterial flora associated with decomposing *Phragmites* leaf litter in a seawater lake. *Hydrobiologia* 263: 145–154.
- **Timmis K N, (2002).** *Pseudomonas putida*: a cosmopolitan opportunist par excellence. *Environ. Microbiol.* 4, 779-781.
- **Van parijs F R D, Moreel K, Ralph J, Boerjan W, Merks R M H, (2010).** *Plant Physiol.* 153. 1332.
- **U.S. Geological Survey, (2007).** U.S. Geological Survey, *Glossary—Biodegradation* access date July 21, 2010.
- **Warren R S, Fell P E, Grimsby J L, Buck E L, Rilling G C, and Fertik R A, (2001).** Rates, patterns, and impacts of *Phragmites australis* expansion and effects of experimental *Phragmites* control on vegetation, macroinvertebrates, and fish within tidelands of the lower Connecticut River. *Estuaries.* 24:90–107.

- **Windham L, Weis JS, Weis P,(2003).** Uptake and distribution of metals in two dominant salt marsh macrophytes, *Spartina alterniflora* (cordgrass) and *Phragmites australis*(common reed).
- **Windham L ET R. G, Lathrop Jr,(1999).**Effects of *Phragmites australis*(common reed) invasion on aboveground biomass and soil properties in brackish tidal marsh of the Mullica River, New Jersey. *Estuaries*, 22(4), 927-935.
- **Wisdomkofi A, Terlabie N, Esther S D, (2006).** Screening of 42 Bacillus isolates for ability to ferment soybeans into dawadawa. *International journal of microbiology*. 106: 343-347.
- **Zedler J B, and Kercher S, (2004).** Causes and consequences of invasive plants in wetlands: Opportunities, opportunists, and outcomes. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 23(5), 431-452.
- **Zirmi-zembri N, Kadi SA, (2016).** Valeur nutritive des principales ressources fourragères utilisées en Algérie. 1- Les fourrages naturels herbacés. *Livestock Research for Rural Development*. 28 (8).134-151.

ANNEXE

➤ Bouillon nutritif :

- Extrait de viande.....1g
- Extrait de la levure.....2.5g
- Peptone.....5g
- Na Cl.....5g
- Eau distillé.....1L
- PH.....7

➤ Gélose nutritif :

- Extrait de viande.....1g
- Extrait de la levure.....2.5g
- Peptone.....5g
- NaCl.....5g
- Eau distillé.....1L
- Agar18g
- Ph.....7

➤ Milieu minérale :

- KH_2PO_42.5g
- K_2HPO_42.5g
- NH_4NO_32.5g
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$0.5g
- Fe Cl_30.125g
- $\text{Ca Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$0.05g
- Ph.....7