جامعة سيدي محمد بن عبد الله بفاس
UNIVERSITÉ SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH DE FES

كلية العلوم ظهر المهراز فاس
FACULTE DES SCIENCES DHAR EL MAHRAZ FES

N° d'ordre : 77

Centre des Etudes Doctorales : Sciences et Techniques et Sciences Médicales

Formation Doctorale : Molécules Bioactives, Santé et Biotechnologies

Discipline : Biologie

Spécialité : Biochimie et Biotechnologie

Laboratoire : Laboratoire de Biotechnologie, Environnement, Agro-alimentaire et Santé (LBEAS)

Thèse pour l'obtention de DOCTORAT

Traitement biologique et physique des lixiviats de la décharge publique contrôlée de la ville de Fès à l'échelle pilote

Préparée par : AMAKDOUF Halima

Soutenue le 24/12/2022 devant le jury :

Nom et Prénom	Grade	Etablissement	Qualité
Pr. BOUSTA Dalila	PES	Faculté des Sciences Dhar El Mahraz- Fès	Présidente
Pr. SGHIR Abdelghani	PES	Université d'Evry Val d'Essonne- Paris	Rapporteur
Pr. CHAHLAOUI Abdelkader	PES	Faculté des Sciences- Meknès	Rapporteur
Pr. TALEB Mustapha	PES	Faculté des Sciences Dhar El Mahraz- Fès	Rapporteur
Pr. EL KARKOURI Abdenbi	PH	Faculté des Sciences Dhar El Mahraz- Fès	Examinateur
Pr. BOUIA Abdelhak	PES	Faculté des Sciences Dhar El Mahraz- Fès	Examinateur
Pr. MERZOUKI Mohammed	PES	Faculté des Sciences Dhar El Mahraz- Fès	Directeur de thèse

Année Universitaire : 2021-2022

Table des matières

Résumé
Abstract
Liste d'abréviations
Introduction générale 1
Partie 1 : Synthèse bibliographique 4
I. Etats des déchets solides au Maroc 3
II. Loi 28-00 : relative à la gestion des déchets ..... **Erreur ! Signet non défini.**
II.1 Programme National de gestion des Déchets Ménagers et assimilés (PNDM) 4
III. Lixiviats des centres d'enfouissement des déchets urbains 5
III.1 Généralités 5
III.2 L'évolution des déchets 5
III.3 Définition des lixiviats 7
III.4 Types des lixiviats 8
III.4.1 Les lixiviats jeunes 8
III.4.2 Les lixiviats intermédiaires 9
III.4.3 Les lixiviats âgés (> 10 ans) 9
IV. Mécanismes de formation des lixiviats 9
V. Types de polluants présents dans les lixiviats 10
VI. Impact des lixiviats sur l'environnement et la santé humaine 10
VI.1 Impact sur l'homme 10
VI.2 Impact sur le sol 12
VI.3 Impact sur l'eau 12
VII. Procédés de traitement des lixiviats 12
VII.1 Traitement biologique 12
VII.1.1 Traitement aérobie 13
VII.1.2 Traitement anaérobie 13
VII.2 Traitement physico-chimique 13
VII.2.1 Traitement par flottation 13
VII.2.2 Traitement par coagulation floculation 13
VII.2.3 Traitement par adsorption 14
VIII. Le traitement par filtration 14
IX. Le réacteur séquentiel discontinu (RSD) 16
IX.1 Généralités 16

IX.2 Performance 17
X. Les cendres volantes 17
XI. Traitement par Bio-augmentation 18
XII. La métagénomique 18
XII.1 L'histoire de la métagénomique 18
XII.2 Différents types de métagénomique 19
XIII. Caractérisation de la diversité d'une communauté microbienne 20
XIII.1 La diversité alpha 20
XIII.2 Evaluation de la couverture 20
XIII.2.1 Les courbes d'accumulation et l'étude de la raréfaction 20
XIII.3 Estimation de la richesse d'une communauté 21
XIII.3.1 Les estimateurs paramétriques 21
XIII.3.2 Les estimateurs non-paramétriques 22
XIII.4 Traduction de la structure d'une communauté 23
XIII.4.1 Les indices de diversité 23
XIII.5 Les logiciels accessibles 24
Partie II: Matériel et Méthodes 28
Chapitre I : Traitement des lixiviats par le réacteur séquentiel discontinu couplé à la colonne de filtration 29
Introduction 30
I. Présentation du site expérimental 30
I.1 Le groupe ECOMED Maroc 30
I.2 La décharge contrôlée de la ville de Fès 31
I.3 Localisation du site 33
I.4 Choix du site 36
I.5 Le site d'enfouissement 36
II. Description du procédé 38
II.1 Traitement biologique par RSD (Réacteur séquentiel discontinu) 38
III. Traitement par filtration sur colonne avec des cendres volantes 40
IV. Les méthodes d'analyses 41
IV.1 Analyses physico-chimiques 41
IV.1.1 La demande chimique en oxygène (DCO) 41
IV.1.2 La demande biologique en oxygène (DBO_5) 41
IV.1.3 Les ions ammonium 41
IV.1.4 Les nitrates 42

IV.1.5 Les nitrites 42
IV.1.6 Les sulfates 42
IV.1.7 Les orthophosphates 42
IV.1.8 Les Matières En Suspension (MES) 43
IV.1.9 La température 43
IV.1.10 Le pH 43
IV.1.11 La conductivité électrique 43
IV.1.12 La Coloration 43
IV.1.13 L'azote total kjeldhal (NTK) 44
IV.1.14 Analyse par HPLC-UV 45
IV.2 Analyses microbiologiques 45
IV.2.1 Coliformes totaux et fécaux 45
IV.2.2 Germes totaux 45
IV.2.3 Streptocoques fécaux 46
IV.2.4 Staphylocoques 46
IV.2.5 Levures 46
IV.3 Analyses métalliques 46
Chapitre II : La Bio-augmentation 47
Introduction 48
I. Site d'étude et échantillonnage 48
II. Isolement et caractérisation des souches bactériennes de l'effluent de lixiviation 48
III. Identification moléculaire 49
III.1 Extraction rapide de l'ADN 49
III.2 Réaction d'amplification en chaine 49
III.3 Séquençage des produits PCR 50
IV. Traitement des lixiviats, à l'échelle de laboratoire, par les souches bactériennes 50
V. Analyses statistiques 50
VI. Traitement des lixiviats, à l'échelle pilote, par les souches bactériennes 51
Chapitre III: La métagénomique 52
I. La prise de l'échantillon 53
II. Préparation du séquençage 53
II.1 Extraction d'ADN génomique 53
II.2 Génération d'amplicon 53
II.3 Quantification et qualification 54
II.4 Mélange et purification des produits PCR 54

III. Analyse bio-informatique 55
III.1 Assemblage et correction des séquences 55
III.2 Recherche et élimination des séquences chimériques 55
III.3 Répartition des séquences en OTUs 55
III.4 Analyse de la raréfaction 55
Partie III : Résultats et discussions 56
Chapitre I: Traitement biologique des lixiviats de la décharge contrôlée de la ville de Fès avec le réacteur séquentiel discontinu 57
Introduction 58
I. Caractérisation physico-chimique et microbiologique des lixiviats de la décharge contrôlée de la ville de Fès 58
I.1 Caractérisation physico-chimique 58
I.2 Caractérisation métallique des lixiviats 61
II. Caractérisation microbiologique des lixiviats 63
III. Traitement biologique des lixiviats dans un réacteur séquentiel discontinu à l'échelle pilote 63
III.1 Les boues activées 65
III.2 Variation du pH, de l'oxygène dissous et de la température dans le réacteur séquentiel discontinu 67
IV. Résultats du traitement des lixiviats dans le pilote 70
V. L'effet du nombre cycle par jour sur l'efficacité de l'élimination des matières organiques et de l'azote dans le RSD 74
Chapitre II : Traitement biologique des lixiviats dans le réacteur séquentiel discontinu (RSD) couplé à la filtration 77
Introduction 78
I. Caractérisation de la cendre volante 78
I.1 Aspect microscopique des cendres volantes 78
I.2 Caractérisation chimique des cendres volantes 79
II. Couplage du système de traitement par RSD et de la filtration 80
III. Colmatage et régénération de la colonne de filtration 86
Conclusion 87
Chapitre III : La Bio-augmentation 88
Introduction 89
I. Caractérisation morphologique et microscopique des souches isolées à partir des lixiviats 89
I.1 Dosage de l'ADN 89
I.2 Electrophorèse sur gel d'agarose 90

I.3 Identification moléculaire 91
II. Performance des isolats dans l'élimination de la DCO et les métaux lourds 91
II.1 Elimination de la DCO des lixiviats bruts 91
II.2 Élimination des métaux lourds 95
III. Résultats des analyses physico-chimiques et microbiologiques du traitement du lixiviats par couplage du RSD à la colonne de filtration après bio-augmentation à l'échelle pilote 99
IV. Résultats des analyses physico-chimiques du traitement du lixiviats par couplage du RSD à la colonne de filtration après bio-augmentation 101
IV.1 Caractérisation morphologique et microscopique des souches isolées à partir des boues activées 103
V. Traitement des lixiviats, à l'échelle de laboratoire par les souches isolées à partir des boues activées. 103
V.1 Elimination de la DCO 104
VI. Traitement des lixiviats, à l'échelle pilote par les souches 107
Conclusion 110
Chapitre IV : La métagénomique 111
I. Extraction d'ADN génomique de la boue 112
II. Etude de la composition des communautés microbienne colonisant le réacteur séquentiel discontinu 113
II.1 Analyses de la diversité Alpha 114
III. Le groupe *Bacteria* 118
III.1 Le phylum des *Proteobacteria* 124
III.1.1 *Betaproteobacteria* 124
III.1.2 *Alphaproteobacteria* 125
III.1.3 *Gammaproteobacteria* 125
III.1.4 *Deltaproteobacteria* 126
III.1.5 Phylum *Deinococcus-Thermus* 126
III.2 Phylum *Planctomycetes* 126
III.3 Le phylum *Bacteroidetes* 127
III.4 Le phylum *Actinobacteria* 127
III.5 Le phylum des *Chloroflexi* 128
III.6 Le phylum *Firmicutes* 129
III.7 Phylum *Nitrospirae* 129
III.8 Le phylum *Epsilonbacteraeota* 129
III.9 Le phylum *Acidobacteria* 130
III.10 Le phylum *Gemmatimonadetes* 130

III.11 Le phylum des *Patescibacteria* 130
III.12 Le phylum des *Zixibacteria* 131
III.13 Le phylum des *Tenericutes* 131
III.14 Le phylum *des Calditrichaeota* 131
III.15 Les groupes phylogénétiques minoritaires 132
III.15.1 Le phylum des *Synergistetes* 132
III.15.2 Le phylum *Latescibacteria* 132
III.15.3 Le phylum *Spirochaetes* 132
III.15.4 Le phylum *Dadabacteria* 132
III.15.5 Le phylum *Atribacterota* 133
III.15.6 Le phylum *Acetothermia* 133
III.15.7 Le phylum *Dependentiae* 133
III.15.8 Le phylum *Chlamydiae* 133
III.15.9 Le phylum *BRC1* 133
III.15.10 Le phylum *Marinimicrobia (SAR406_clade)* 134
III.15.11 Le phylum *Elusimicrobia* 134
III.15.12 Le phylum *Fusobacteria* 134
III.15.13 Le phylum *Nitrospinae* 134
IV. Groupe des Eucaryotes 135
IV.1 Phylum *Ciliophora* 139
IV.2 Phylum *Choanozoa* 140
IV.3 Phylum *Eucaryote non cultivé* 140
IV.4 Phylum *Chytridiomycota* 140
IV.5 Phylum *Cercozoa* 141
IV.6 Phylum *Amoebozoa* 141
IV.7 Phylum *Evosea* 142
IV.8 Phylum *Chlorophyta* 142
IV.9 Phylum *Uncultured soil eukaryote* 142
IV.10 Phylum *Ochrophyta* 142
IV.11 Phylum *non classé* 143
IV.12 Phylum *Bacillariophyta* 143
IV.13 Phylum *Jakobida non cultivé* 143
IV.14 Phylum *Amobozoa* non cultivé 144
IV.15 Phylum *Oomycota* 144
IV.16 Phylum *Dinoflagellata* 144

IV.17 Phylum *Bigyra* 144
IV.18 Phylum des *Platyhelminthes* 144
V. *Les champignons* 144
V.1 Phylum *Ascomycota* 148
V.1.1 Classe *Dothideomycetes* 148
V.1.2 *C*lasse des *Eurotiomycetes* 149
V.1.3 Classe *Sordariomycetes* 150
V.1.4 Classe *Leotiomycetes* 151
V.1.5 Classe des *Saccharomycetes* 151
V.2 Phylum *Basidiomycota* 152
VI. La Symbiose des micro-organismes dans les boues activées 152
VI.1 Bactéries - Micro algues 153
VI.2 Bactéries – Protozoaires 153
VI.3 Bacteries – Champignons 154
VII. L'élimination de la DCO 154
VIII. L'élimination de la forme azotée 154
IX. Elimination des métaux lourds 155
X. Elimination des ions PO_4 156
XI. L'élimination de sulfate 156
Conclusion 157
Conclusion générale 159
Perspectives 162
Références bibliographiques 163
Annexes 192

Résumé

Les décharges sont destinées à la gestion et à l'élimination des déchets solides municipaux, qui produisent des volumes élevés de lixiviats. La nature complexe des lixiviats des décharges entraîne divers problèmes graves concernant la qualité de l'eau et la santé humaine. Par conséquent, les effluents des décharges doivent être traités avant d'être rejetés dans les égouts ou dans les ressources naturelles afin de réduire leurs effets négatifs et de se conformer aux normes réglementaires. La présente étude se focalise sur les traitements biologiques et physiques des lixiviats de la décharge contrôlée de la ville de Fès, en utilisant un réacteur séquentiel discontinu (RSD) couplé à un système de filtration. Les cendres volantes ont été caractérisé par microscopie électronique à balayage (MEB). Les résultats obtenus montrent que ce dernier a une grande capacité dans le traitement de l'effluent. De plus, pour les lixiviats, la chromatographie liquide à haute performance couplée à l'ultra-violet (HPLC-UV) a indiqué la présence de détergent, ce qui a conduit à la formation de mousse qui a été éliminée par l'ajout de silicone. De nombreux paramètres tels que la température, le pH et la durée du cycle ont également été pris en compte pour leur effet sur le traitement. Les résultats ont démontré la fiabilité et la haute performance du système de traitement développé puisqu'il a permis une élimination totale de la DBO5, 98% de la DCO, un taux d'élimination de 100% pour le NH_4, 78% pour le NO_2, et 84% pour le NO_3. En outre, ce système de traitement semblait capable d'éliminer la pollution fécale et les germes pathogènes. Notre réacteur séquentiel discontinu a prouvé son efficacité pour le traitement des lixiviats de la décharge à l'échelle pilote, favorisant son développement pour un produit commercial à grande échelle correctement conçu et mis en œuvre. En ce qui concerne la technique de bio-augmentation, des micro-organismes sont utilisés pour éliminer la charge polluante des lixiviats. Huit souches isolées à partir des lixiviats qui ont été choisies pour leur capacité à oxyder la matière organique et leur résistance aux métaux lourds (Cr, Fe, Zn, et Ni). Elles ont été inoculées séparément à différentes concentrations (2%, 4%, et 6%). Les résultats obtenus montrent une réduction significative de la charge polluante en utilisant ces espèces bactériennes. L'application de ces souches à l'échelle pilote à permis de renforcer la performance de notre RSD. Dans la deuxième partie de la bio-augmentation, nous avons ensemencé notre réacteur avec sept souches isolées à partir de notre boue et qui ont montré une capacité à éliminer la DCO à l'échelle du laboratoire. Les résultats obtenus à l'échelle pilote ont mis en évidence une dénitrification en conditions aérobies. Après que notre procédé de traitement biologique a montré une grande capacité épuratrice dans le traitement des lixiviats, nous avons réalisé une étude métagénomique afin de savoir la composition du microbiome qui existe dans ces boues activées. Les analyses ont révélé la présence d'une communauté microbienne diversifiée au sein du bioréacteur majoritairement représentée par ; le groupe *Bacteria* : les *Protéobactéries* (65%), qui sont connus pour leur rôle de nitrification et de dénitrification des lixiviats en conditions aérobies, ainsi que l'élimination de la matière organique. Ainsi, la présence de *Deinococcus-Thermus, Planctomycetes. Bacteroidetes, Actinobacteria* et *Chloroflexi.* Le groupe *Eukarya* ; *Ciliophora* (75,46%) se caractérise par une capacité à résister aux métaux lourds, aussi la présence de : *Choanozoa Eucaryotes non cultivés, Chytridiomycota* et *Cercozoa*. Par ailleurs, Les *champignons* sont représentés par; *Ascomycota, qui* sont connus pour leur rôle majeur dans l'élimination des métaux lourds et la matière organique. *Basidiomycota,* considéré comme agent de bio-remédiation pour recycler le carbone.

Mots clés : Lixiviats ; RSD; Cendres volantes ; Bio-augmentation ; Dénitrification aérobie; Métagénomique.

Abstract

Landfills are intended for the management and disposal of municipal solid waste, which produces high volumes of leachate. The complex nature of landfill leachate leads to a variety of serious water quality and human health problems. Therefore, landfill effluents need to be treated before being discharged to sewers or natural resources in order to reduce their negative effects and to comply with regulatory standards. The present study focuses on the biological and physical treatments of leachates from a controlled landfill created in Fez, using a sequential batch reactor (SBR) coupled with a filtration system. The fly ash was characterised by scanning electron microscopy (SEM). The results obtained show that the latter has a high capacity in the treatment of the effluent. In addition, for the leachate, the High Performance Liquid Chromatography-Ultra-Violet (HPLC-UV) indicated the presence of detergent, which led to the formation of foam that was eliminated by adding silicone. Numerous parameters such as temperature, pH and cycle time were also taken into account for their effect on the treatment. The results demonstrated the reliability and high performance of the developed treatment system as it achieved 100% removal of BOD_5, 98% removal of COD, 100% removal of NH_4, 78% removal of NO_2, and 84% removal of NO_3. In addition, this treatment system appeared to be capable of removing faecal pollution and pathogens. Our sequential batch reactor has proven to be effective for landfill leachate treatment on a pilot scale, favouring its development into a properly designed and implemented large-scale commercial product. In the bio-augmentation technique, microorganisms are used to remove the pollutant load from the leachate. Eight strains isolated from the leachates were chosen for their ability to oxidise organic matter and their resistance to heavy metals (Cr, Fe, Zn, and Ni). They were inoculated separately at different concentrations (2%, 4%, and 6%). The results obtained show a significant reduction in the pollutant load using these bacterial species. The application of these strains on a pilot scale has enhanced the performance of our SBR. In the second part of the bio-augmentation, we seeded our reactor with seven strains isolated from our sludge and which showed a capacity to remove COD at laboratory scale. The pilot scale results showed denitrification under aerobic conditions. After our biological treatment process showed a high purifying capacity in the treatment of leachate, we carried out a metagenomic study to find out the composition of the microbiome that exists in this activated sludge. The analyses revealed the presence of a diversified microbial community within the bioreactor, majority represented by the Bacteria group Proteobacteria (65%), which are known for their role in nitrification and denitrification of leachates under aerobic conditions, as well as the elimination of organic matter. Thus, the presence of Deinococcus-Thermus, Planctomycetes. Bacteroidetes, Actinobacteria and Chloroflexi. The Eukarya group; Ciliophora (75.46%) is characterised by an ability to resist heavy metals, also the presence of: Choanozoa Eukaryotes not cultivated, Chytridiomycota and Cercozoa. Fungi are also represented by; Ascomycota, which are known for their major role in the elimination of heavy metals and organic matter. Basidiomycota, which are considered bioremediation agents for recycling carbon.

Key words: Leachate; RSD; Fly ash; Bio-augmentation; Aerobic denitrification; Metagenomic.

Liste d’abréviations

Al	Aluminium
Al_2O_3	Oxyde d'aluminium
Cd	Cadmium
Cu	Cuivre
Cr	Chrome
CH_4	Méthane
CO_2	Dioxyde de carbone
CaO	Oxyde de calcium
DBO_5	Demande Biologique en Oxygène pendant 5 jours
DCO	Demande Chimique en Oxygène
DO	Densité optique
Fe	Fer
HCO_3	Hydrogénocarbonate
HPLC	Chromatographie en phase liquide à haute performance
ICP	Spectrométrie à plasma à couplage inductif
K_2O	Oxyde de potassium
MES	Matières en suspension
MgO	Oxyde de magnésium
MEB	Microscopie électronique à balayage
Mn	Manganèse
NO_3^-	Nitrate
NO_2^-	Nitrite
NaOH	Hydroxyde de sodium
NGS	Séquençage nouvelle génération
NH_4^+	Ammonium
NTK	Azote total kjeldhal
OTU	Unité Taxonomique Opérationnelle
Pb	Plomb

PO_4^- Orthophosphate

RSD Réacteur séquentiel discontinu

SNRVD Stratégie Nationale de Réduction et de Valorisation des Déchets

SO4 Sulfate

SiO_2 Silice

SO_3 Trioxyde de soufre

SiO_2 Dioxyde de silicium

SO_3 Trioxyde de soufre

Introduction générale

La protection de l'environnement est devenue un défi inévitable, en raison de différentes sources de contamination, et qui consiste à prendre des mesures d'évaluation pour réduire les effets négatifs des activités humaines sur notre environnement.

Parmi les sources de contamination, les décharges, qui constituent la principale méthode utilisée dans la gestion et l'élimination des déchets solides municipaux dans de nombreux pays (Deng and Englehardt, 2006) .

Le Maroc a connu une urbanisation intensive au cours des dernières décennies, avec une augmentation de la quantité de déchets ménagers. Cela a conduit à la prolifération des décharges illégales et insalubres, qui constituent une menace pour la santé publique et l'environnement (UN, 2016). En 2015, la quantité totale de déchets au Maroc était estimée à 26,8 millions de tonnes (Mt), sans compter les déchets agricoles, avec une croissance prévue de 39 MT d'ici 2030, selon les chiffres publiés dans la stratégie nationale de réduction et de valorisation des déchets (SNRVD). Cette production de déchets se répartit comme suit :

- 7,4 MT de déchets ménagers et assimilés (DMA), dont 79 % en milieu urbain. En 2017, 4,7 MT de déchets ménagers ont été enregistrées annuellement.

- 5,4 MT de déchets industriels.

- 14 MT de déchets de construction et de démolition (MEVAC et ECI, 2019; The Climate Chance Observatory team, 2020).

En 2008, 174 décharges non contrôlées actives ont été identifiées, notamment autour des grandes villes. Le Programme National de Développement Communautaire (PNDC) s'est engagé à les fermer ou à les remettre en état. Cependant, les progrès ont été lents. La production est probablement beaucoup plus élevée dans ces endroits (Dalberg Advisors et *al*., 2019). Jusqu'à 2015, le Maroc n'a pas réussi le pari pour atteindre son objectif de convertir toutes ses décharges non contrôlées en décharges contrôlées (Godfred, 2017). Aujourd'hui, seuls 48 % environ des déchets sont mis en décharge dans des sites contrôlés (Ouigmane et *al*., 2020).

En ce qui concerne la ville de Fès, la société américaine ECOMED s'est engagée à réaliser des travaux de valorisation de déchets, depuis l'année 2004 et qui progresse jusqu'à l'année 2030. ECOMED a réussi à produire près de 30% de l'éclairage public de la ville de Fès par la

valorisation et la conversion du biogaz issu des déchets ménagers en énergie électrique (Zaouaq and Zaouaq, 2019).

La ville de Fès reçois chaque jour jusqu'à 1000 tonnes au maximum de déchets surtout dans la saison estivale, et dégagent des odeurs nauséabondes allant parfois jusqu'au centre de la ville de Fès (Sidi et *al*., 2015). Les déchets sont déposés sur le sol et étendus en couches minces (cellules). Ces couches sont ensuite compactées pour diminuer leur volume et sont recouvertes périodiquement d'un matériau de terre approprié (El-Gohary and Kamel, 2016). La dégradation de la fraction organique des déchets dans la décharge, combinée à l'eau de pluie percolante, produit un liquide hautement contaminé appelé «lixiviat» (Hira et *al*., 2018) . La composition des lixiviats des décharges présente des variations en fonction des constituants des déchets solides des décharges, du type de flore microbienne, des caractéristiques du sol, du schéma des précipitations et de l'âge de la décharge (Kulikowska and Klimiuk, 2008; El-Gohary and Kamel, 2016).

Les lixiviats de la décharge sont trop concentrés en matière organique, en métaux lourds et en micro-organismes. Cette composition est excessivement variable d'une décharge à une autre en fonction de la nature des déchets et l'âge de la décharge (Jirou et *al*., 2014). Les lixiviats doivent subir un traitement approprié avant d'être rejetés dans les ressources naturelles (Renou et al., 2008; Pasquier, 2013). En cas d'absence du traitement, ils peuvent engendrer, à long terme, des dommages à l'environnement, aux animaux, aux plantes et aux humains (Song et *al*., 2019).

Selon la littérature, récemment de nombreux procédés biologiques (Bernat et al., 2021; Jagaba et al., 2021), physiques et chimiques (Detho et *al*., 2021; Kastali et *al*., 2021) ont été développés pour traiter les lixiviats des décharges. La sédimentation (Mojiri et *al*., 2013), le décapage à l'air (dos Santos et *al*., 2020), l'adsorption (Keyikoglu et al., 2021), la filtration sur membrane (Costa et al., 2019) sont les méthodes physiques de traitement des lixiviats. Parmi les méthodes chimiques utilisées pour le traitement des lixiviats, la coagulation et la floculation (Amor et *al*., 2015), la précipitation chimique (Li et *al*., 1999; Viegas et *al*., 2021) et les oxydations électrochimiques (Deng and Englehardt, 2007) sont les plus importantes. D'une part, le processus physico-chimique peut éliminer la plupart des contaminants, et d'autre part ces méthodes sont coûteuses et produisent une pollution secondaire, tandis que les méthodes biologiques sont les techniques de traitement des lixiviats les plus courantes en raison de leur simplicité, de leur rentabilité et du faible coût (Artan et *al*., 2001).

Ce travail de thèse s'inscrit dans le cadre d'un projet retenu et financé par le ministère de l'environnement en 2014 et qui rentre dans le cadre du programme de recherche et développement (R&D) dans le domaine de l'environnement établi par le Ministère de tutelle. Ce projet vise à contribuer au traitement des lixiviats de la décharge publique de la ville de Fès par un système de traitement physique et biologique à l'échelle pilote. Ce projet est coordonné par le Pr. MERZOUKI Mohammed.

L'objectif principal de notre travail est le suivant:

- Éliminer la charge chimique et biologique des lixiviats, afin d'avoir un effluent qui répond aux normes de rejet en vigueur.

Pour atteindre notre but, plusieurs objectifs spécifiques ont été atteints tels que:

- L'évaluation de la qualité physico-chimique et microbiologique de ces effluents.
- Le traitement de ces effluents par deux voies biologiques et physiques.
- Renforcer le rendement épuratoire du traitement biologique par bio-augmentation.
- Etude de l'ADN Métagénomique de la boue.

Ce travail est structuré comme suit :

- La première partie sera consacrée à la synthèse bibliographique.
- La deuxième partie portera sur le matériel et méthodes utilisés dans les quatre chapitres
- La troisième partie abordera les analyses et discussion scientifique des résultats obtenus dans les quatre chapitres, sachant que:
  - Le premier chapitre portera sur une caractérisation des lixiviats de la décharge contrôlée de la ville de Fès.
  - Le deuxième chapitre sur le traitement des lixiviats par le réacteur séquentiel discontinu (RSD).
  - Dans le troisième chapitre nous présentons les résultats du couplage du RSD à la filtration sur colonne tout en utilisant un support naturel.
  - Le quatrième chapitre concernera en particulier la technique de la bio-augmention, la nouvelle technique de traitement des lixiviats tout en utilisant des souches bactériennes isolées capables de dégrader la DCO.
  - Le cinquième chapitre abordera l'étude de la métagénomique de notre boue activée.

Partie 1 : Synthèse bibliographique

I.Etats des déchets solides au Maroc

Le développement socio-économique et l'accroissement démographique du Maroc ont été accompagnés par l'augmentation de la quantité et de la qualité des déchets solides produits (Ministère délégué auprès du ministre de l'énergie des mines, de l'eau et de l'environnement, 2015).

Les déchets sont définis par la loi 23-12 relative à leur gestion et à leur élimination comme : Tous résidus issu d'une fabrication, extraction, utilisation ou consommation d'un matériau ou substance, et en règle générale, tout objet et matériaux qui sont abandonnés ou qui doivent être éliminés pour éviter de nuire la santé humaine et l'environnement (Direction de la réglementation et du contentieux, 2006). Par la suite, cette loi a été abrogée et remplacée par la loi n° 23-12, qui interdit l'importation de déchets dangereux :

L'importation des déchets dangereux est interdite, mais peut être autorisée par l'administration lorsque le demandeur :

- S'engage à procéder ou à faire procéder au traitement desdits déchets en vue de leur élimination ou de leur valorisation.
- Dispose des compétences et des moyens humains et matériels lui permettant de gérer l'opération d'importation selon des méthodes écologiquement rationnelles conformément aux conditions fixées par voie réglementaire (Direction de la réglementation et du contentieux, 2012).

La mauvaise gestion des déchets qui sont souvent déversés dans des décharges illégales ou des points noirs sans aucun traitement ni contrôle, entrainera de sérieux conséquences pour la santé humain et l'environnement et l'avenir des activités sociales et économique (Biyada, 2015b). Afin d'améliorer les conditions de gestion des déchets, le secteur public s'est appelé à renforcer le cadre juridique en élaborant et en exécutant le Programme National de gestion des Déchets Ménagers et assimilés (PNDM : 2008 – 2023) doté d'un budget de 40 milliards de dirhams visant la compensation du manque de moyens relaté dans ce secteur (Association des Enseignants des Sciences de la Vie et de la Terre, 2019).

II. Programme National de gestion des Déchets Ménagers et assimilés (PNDM)

Le PNDM concerne toutes les villes du Maroc, sans exception et s'étale sur une durée de 15 ans dans le but d'améliorer la qualité de vie des citoyens. À long terme, ce programme vise aussi la généralisation de la collecte, le traitement des déchets ménagers et la diminution des problèmes causés par les décharges non contrôlées et privilégier la gestion règlementée des déchets en décharges contrôlées grâce au recyclage et à la valorisation (Association des Enseignants des Sciences de la Vie et de la Terre, 2019).

Le PNDM s'inscrit dans le cadre de la politique de réforme et de développement du secteur des déchets ménagers. Ce programme a été élaboré par le Ministère Délégué chargé de l'Environnement et le Ministère de l'Intérieur avec l'appui de la Banque Mondiale (BET hydroprotec consult, 2012; Nya, 2020).

Le programme, qui s'étale sur 15 ans (2008-2023) répartis en 3 phases, vise essentiellement à :

- ❖ Veiller à ce que le taux de collecte et de nettoyage des déchets ménagers atteigne 90 % en 2022 et 100 % dès 2030,
- ❖ Développer le volet « tri-recyclage-valorisation »,
- ❖ Piloter le tri, et le taux de valorisation atteindra 20 % en 2022,
- ❖ Promouvoir les plans directeurs de gestion des déchets ménagers et assimilés dans tous les provinces du Royaume,
- ❖ Organiser des formations et une sensibilisation de toutes les parties prenantes aux problématiques des déchets (Département du développement durable, 2010; Ministère de l'intérieur, 2013).

À l'heure actuelle, le programme a accompli d'importantes réalisations, dont :

- ✓ Deux expériences de conversion énergétique du biogaz dans les villes d'Oujda et de Fès;
- ✓ Une expérience nationale de tri à Oum Azza à Rabat ;
- ✓ Un taux de collecte professionnalisée de 86% contre 46% en 2007 ;
- ✓ Un taux d'enfouissement de 37% contre 11% en 2007 (GIZ, 2012).
- ✓ Augmentation du taux de mise en Centre d'Enfouissement et de Valorisation (CEV) pour atteindre 62.63 % (3,95 MT) des déchets ménagers produits, contre 32 % en 2012 et 10% avant 2008.

- ✓ Le nombre actuel de décharges contrôlées et centres d'enfouissement technique et de Valorisation est de 26 : Fès, Oujda, El Jadida, Essaouira, Rabat, Berkane, Figuig, Guelmim, Al Hoceima, Agadir, Nador, Dakhla, Mohammedia, Laayoune, Ifrane, Es-Smara, M'Dieq-Fnideq, Safi, Khouribga, Meknès, Ouarzazate, Marrakech, Khénifra, Béni Mellal, Boujdour et Tanger.
- ✓ 24 nouveaux projets de décharges contrôlées et centres d'enfouissement et de valorisation (CEV/CET) sont programmés à l'horizon 2021.
- ✓ Réhabilitation de 52 décharges non contrôlées, 22 en cours et programmées en 2019-2021.
- ✓ Le nombre de plans directeurs de gestion des déchets est de 64 dont l'achèvement de 45 plans directeurs de gestion des déchets pour les provinces de Sidi Ifni, Tiznit, Khénifra, Al Hoceima, Larache, Jerrada, Berrechid, Al Jadida, Ouarzazate, Mohammedia, Oujda-Angad, Midelt, Tinghir, Sidi Bennour, Kelaa des Sraghna, Marrakech, Rehamna, Sidi Kacem, Figuig, Fakih Bensaleh, El Hajeb, Agadir et Inezgane, Sidi Slimane, Settat, Benslimane, Boulemane, Chichaoua, Kénitra, Errachidia, Guelmim, Séfrou, Al Haouz, Essaouira, Taroudante, Casablanca, Taourirt, El Youssoufia, Meknès, CHTOUKA Ait Baha, Guercif , Tata, Driouch, et Rabat-Salé-Kénitra,
- ✓ 18 plans directeurs de gestion des déchets en cours et 1 plan directeur de gestion des déchets en cours de Lancement : Khouribga (Ministère de l'intérieur, 2013).

III. Lixiviats des centres d'enfouissement des déchets urbains

III.1 Généralités

Les centres d'enfouissement ont pour objectif d'accueillir les déchets ultimes, afin de limiter les risques de pollution de l'environnement. La percolation d'eau dans le site de stockage qui provient de précipitations météoriques d'eau apportée par les déchets eux-mêmes, et aussi des eaux de ruissellement entrant dans les alvéoles de stockage, génère et un liquide qu'on appelle 'lixiviats' (Trabelsi, 2012).

III.2 L'évolution des déchets

En raison de la composition hétérogène des déchets et de leur enfouissement échelonné dans le temps, le degré de dégradation des déchets varie spatialement au sein du site d'enfouissement (Grisey, 2015), et qui comporte généralement cinq phases (Figure 1):

- Phase aérobie

Cette phase est brève, étant donné le comblement progressif et la compaction des déchets. Elle ne concerne que le début de l'accumulation des déchets sur le site et ultérieurement la couche supérieure des déchets. La dégradation des matières organiques est en aérobie. Cette opération conduit à la production de gaz carbonique, d'eau et à un dégagement important de calories, résultat de la respiration des bactéries (Thonart et *al*., 1998).

- Phase de transition

Elle représente le passage progressif des conditions aérobies aux conditions anaérobies, elle se caractérise par une chute du potentiel redox (le milieu devient réducteur) et une augmentation de la demande chimique en oxygène (DCO) et qui dure de quelques jours à quelques semaines (Trabelsi, 2012; Sahraoui and Aboubaker, 2016).

- Phase d'acétogenèse

Au cours de la phase d'acétogenèse des bactéries dites " acétogènes" qui hydrolysent et transforment la matière organique par fermentation créant des molécules simples et solubles (acides gras, ammoniaque). Cette fermentation peut durer plusieurs années, voire plusieurs décennies. Les lixiviats formés durant cette phase se caractérisent par de fortes valeurs en DBO et un pH acide (Trabelsi, 2012).

- Phase méthanogènes

Cette étape de biodégradation de la matière organique correspond à la production de méthane (de l'ordre de 50 à 60% en volume), et de dioxyde de carbone (teneur comprise entre 40 et 60% en volume), à partir des produits organiques issus des étapes métaboliques précédentes, exceptée la formation de gaz. Le lixiviat présente une faible DCO représentative d'une matière organique difficilement biodégradable (Yapo Atsé Alain, 2014; Biyada, 2015a). La méthanogenèse est assurée par les bactéries méthanogènes qui sont des bactéries anaérobies strictes très particulières du point de vue structurel et physiologique et qui font partie de la classe des Archaebactéries (Trabelsi, 2012).

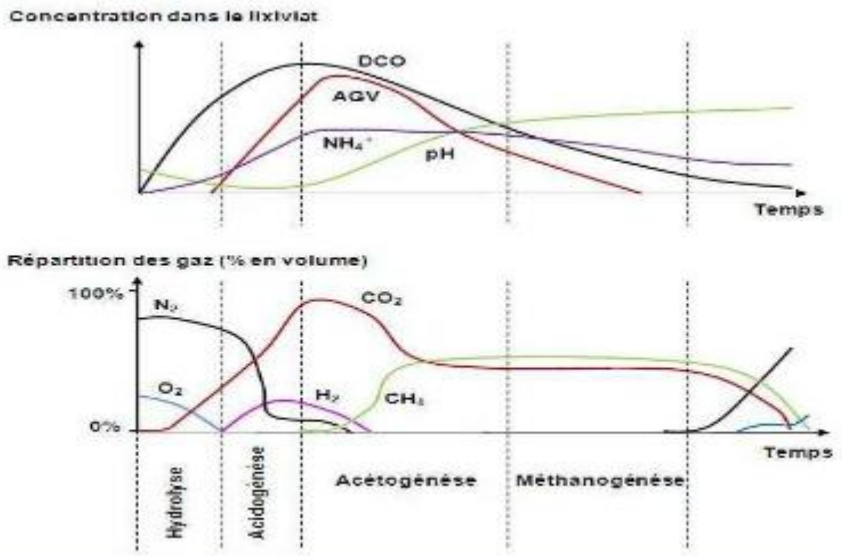


Figure 1: Les phases de dégradation des déchets

- Phase d'oxydation

C'est la phase finale de maturation et de stabilisation de la matière organique, elle s'accompagne d'une chute de la production gazeuse. Cette phase est aussi marquée par une entrée progressive de l'air au sein du milieu, la matière organique relarguée est une grande partie représentée par de la DCO dure, l'oxydation par l'air au sein du massif peut entrainer le relargage des métaux lourds fortement retenues aux composés organiques ou à des espèces réduits (sulfures) (Trabelsi, 2012; Sahraoui and Aboubaker, 2016).

III.3 Définition des lixiviats

Le lixiviat de décharge est produit par un mélange d'eau de pluie qui s'infiltre dans les déchets, d'eau produite par la biodégradation des déchets et de l'eau inhérente aux déchets eux-mêmes. En raison de la complexité des déchets solides dans les décharges, le lixiviat contient un assortiment de polluants, qui peuvent être divisés en composants inorganiques, métaux lourds, matière organique dissoute et des micro-organismes (Zhang et *al*., 2013). Cette définition est très proche de celle adoptée par la législation européenne qui définit le lixiviat comme « tout liquide percolant à travers un dépôt d'ordures et contenu dans la décharge (Grisey, 2013).



Photo 1: Lixiviat de la décharge contrôlée de Fès.

III.4 Types des lixiviats

La composition des lixiviats varie d'une décharge à l'autre en fonction de la phase d'évolution biologique et chimique des déchets, et de leurs natures et aussi des conditions climatiques et la topographie du site. Trois types de lixiviats ont été distingués (tableau 1) (Jirou et *al*., 2014) :

Tableau 1: Caractérisation des lixiviats (Khemissi and Medafer, 2014).

	Jeune	**Intermédiaire**	**Agé**
Age (année)	< 5	5-10	> 10
pH	6,5	6,5 - 7,8	> 7,5
DCO mg/L	> 10 000	4 000 – 10 000	< 4 000
DBO/ DCO	> 0,3	Compris entre 0,1 et 0,3	< 0,1
Composé organique	80% AGV	5-3 % AGV + acide humiques et fulviques	Acide humique et fulviques
Métaux lourds	< 2 000 mg.L^{-1}	-	< 50 mg.L^{-1}

III.4.1 Les lixiviats jeunes

Ces lixiviats se caractérisent par une charge organique élevée relativement biodégradable (seuil de biodégradabilité DBO5/ DCO > 0,3) constituée principalement d'acides gras volatils.

Ces lixiviats peuvent être chargés en métaux (jusqu'à 2 g L^{-1}) du fait de leur pH relativement bas (< 6,5) (Trabelsi, 2012).

III.4.2 Les lixiviats intermédiaires

Ils contiennent des molécules complexes et non volatiles comme les substances humiques et fulviques (Sillet et *al*., 2001). La charge organique diminue et les acides gras volatils se raréfient au profit de composés de hauts poids moléculaires. L'émergence de ces composés tend à diminuer la biodégradabilité du lixiviat. De ce fait, le pH > 7.5 et la charge en métaux devient négligeable (Trabelsi, 2012; Benani and Messaoudi, 2021).

III.4.3 Les lixiviats âgés (> 10 ans)

La charge organique devient faible, se caractérise aussi par la présence des substances humiques de hauts poids moléculaire (la DCO dépasse 3000 mgL^{-1}) qui sont réfractaires à la biodégradation (DBO_5/DCO < 0,1) (Asma and Naima, 2015; Benani and Messaoudi, 2021).

IV. Mécanismes de formation des lixiviats

Les lixiviats apparaissent dès que l'humidité des déchets est supérieure à leur capacité de rétention. Une grande diversité de phénomènes qui joueront plus ou moins en fonction de la nature des déchets, l'âge de la décharge, les conditions climatiques, le mode d'exploitation du centre de stockage (hauteur des déchets, surface exploitée, compactage…) et l'infiltration des eaux. Ces phénomènes peuvent être répartis en deux catégories :

• Les mécanismes physico-chimiques : évolution du pH, du pouvoir tampon, de la salinité et du potentiel d'oxydoréduction des solutions percolant à travers les déchets. Ces solutions mettent en œuvre des mécanismes chimiques de solubilisation, oxydoréduction, adsorption, neutralisation et transfert de matière,

• Les processus biologiques aérobies et anaérobies qui vont dégrader la fraction organique fermentescible des déchets. Il est admis que le phénomène de biodégradation est à l'origine des réactions complexes qui rendent difficile la généralisation de l'ensemble des phénomènes réels (Biyada, 2015b; Larouche, 2015; Godfred, 2017).

V.Types de polluants présents dans les lixiviats

Les compositions chimiques et biochimiques des lixiviats sont non seulement très diverses mais aussi variables dans le temps et dans l'espace, il y a quatre types de polluants (Sillet et *al*., 2001) :

- La matière organique dissoute ou en suspension, issue de la biomasse, exprimée généralement en DCO (les AGV, les substances humiques et fulviques…).
- Les micropolluants organiques (hydrocarbures, composés aromatiques…).
- Les composés minéraux majeurs sous forme ionique (ca^{2+}, Mg^{2+}, Na^+, K^+, NH_4^+, Fe^{2+}, HCO_3^-, Cl-, SO_4^{2-}…), ainsi que d'autres composés tels que les borates, les sulfites…
- Les cations de métaux lourds à l'état de traces, sous forme majoritairement complexée par des ligands minéraux ((HCO_3^-, Cl^-, SO_4^{2-} ou organiques (macromolécules de type humique et fulvique) (S. Renou, 2013).

VI. Impact des lixiviats sur l'environnement et la santé humaine

Les lixiviats représentent une grande part de la pollution liée à une décharge. Contrairement au biogaz, qui est aisément dispersé dans l'atmosphère. Les lixiviats, de part leur nature liquide, sont une source concentrée de polluants (Tirry Nabil, 2015).

Plusieurs études ont déterminé la pollution des sols, des eaux de surface et des eaux souterraines par lixiviat de décharge avec des résultats divers (Adeolu et *al*., 2011).

VI.1 Impact sur l'homme

Les lixiviats possèdent des substances ayant des effets néfastes sur la santé dont : Inorganique, organique et des microorganismes pathogènes.

- **Inorganique**

Les métaux lourds sont l'un des composés inorganiques les plus toxique, certains peuvent être dangereux dans le cas où elles pénètrent dans une source d'eau potable. Les effets possibles de ces métaux lourds sur la santé sont présentés au tableau 2 (Glandier, 2002., AECOM Tecsult inc., 2010).

Tableau 2: Caractéristiques de quelques substances inorganiques susceptibles d'être retrouvées dans les lixiviats du site d'enfouissement (AECOM Tecsult inc., 2010).

Métaux lourds	Utilisation et source	Principaux organes cibles
Cadmium	Agent de placage Fabrication de colorants	Reins, jaunissement des dents, sécheresse de la bouche et de la gorge, troubles olfactifs, emphysème, ostéomalacie, hypertension artérielle, cancer du poumon et de la prostate.
Plomb	◦ Plomb et ses composés : fabrication d'accumulateurs au plomb (batteries). ◦ Plomb métallique : alliage, munitions, matériaux de blindage, matériaux pour la manutention de produits corrosifs, revêtements de câbles électriques, pigments de peinture, céramiques, verre et plastiques	Appareil digestif, Neurologique, Les os.
Zinc	Caoutchouc Textile	Muqueuses gastro intestinales .
Chrome	Papiers , cartons, le cuir, des verres.	Appareil digestif, respiratoire.

- Organismes pathogènes**:**

Certaines maladies d'origine hydrique sont causées par la consommation des eaux contaminée par des lixiviats contenant des micro-organismes pathogènes. Au cours de la dernière décennie (Trabelsi, 2012), de nouvelles maladies infectieuses sont apparues (fièvre typhoïde, choléra, shigellose….), Les bactéries et virus susceptibles d'être retrouvés sont les salmonelles, les shigelloses, *Escherichia coli*, polyvirus, virus de l'hépatite A, etc (Carrier, 1993).

- **Organique :**

Les différentes substances organiques rencontrées dans les lixiviats sont représentées dans le tableau 3.

Tableau 3: Caractéristiques des substances organiques retrouvées dans le lixiviat du site d'enfouissement (Glandier, 2002).

Composés organiques	Principales voies d'exposition	Principaux organe cibles
Benzène	Orale , inhalation	Moelle épinière
Chlorure de vinyle	Orale , inhalation	Système nerveux central, foie
Tetrachloroéthylène	Orale , inhalation	Système nerveux central
Tétrachlorure de carbone	Orale , inhalation	Système nerveux central ,foie
Toluène	Orale , inhalation	Système nerveux, tissus adipeux
Trichloréthylène	Orale	Foie, poumons, cœur.

VI.2 Impact sur le sol

Le sol est dans la plupart des cas la partie la plus polluée de l'écosystème autour des décharges. Plusieurs polluants, y compris des éléments chimiques, les métaux lourds, les hydrocarbures polyaromatiques et les composés pharmaceutiques sont transportés et distribués dans le sol lorsque l'eau s'y infiltre (Ololade et *al*., 2019) .

VI.3 Impact sur l'eau

Les eaux souterraines qui se trouvent près de la décharge contiennent une forte concentration des éléments métallique, des lixiviats de la décharge (Chtioui et al., 2008). Selon les études menées par des auteurs sur les lixiviats , une fois que l'eau souterraine est contaminée, elle peut rester inutilisable ou même dans des conditions dangereuses pendant des décennies ou même des siècles (Cumar and Nagaraja, 2011). Des analyses bactériologiques des eaux superficielles contaminées par les lixiviats, ont été réalisées et ont révélé la présence des germes indicateurs de contamination fécale ainsi que certains germes pathogènes (Abbou et *al*., 2014).

VII. Procédés de traitement des lixiviats

VII.1 Traitement biologique

Le traitement biologique est devenu l'un des procédés de traitement les plus utilisés de nos jours. C'est la méthode la plus connue pour l'élimination des composants organiques, azotés ou

phosphorés des eaux usées. L'une des principales raisons du choix de ce procédé est sa capacité à atteindre une efficacité d'élimination élevée de ces polluants, et en même temps économique.

La dégradation biologique des polluants est causée par l'activité métabolique des micro-organismes, en particulier par les bactéries et les champignons qui vivent dans les milieux naturels (Žgajnar Gotvajn and Pavko, 2015). La biodégradation s'effectue dans les conditions aérobies ou dans les conditions anaérobies.

VII.1.1 Traitement aérobie

Un traitement aérobie permet une réduction partielle des polluants organiques biodégradables et la nitrification de l'azote ammoniacal par les micro-organismes naturellement présents dans le milieu naturel (Tirry Nabil, 2015) .

VII.1.2 Traitement anaérobie

Les processus de digestion anaérobie se produisent dans de nombreux endroits où la matière organique est disponible et le potentiel redox est faible (zéro oxygène). Le traitement anaérobie lui-même est très efficace pour éliminer les composés organiques biodégradables, laissant des composés minéralisés comme $NH_4^{+,}$ PO_4^-, S_2^- dans la solution. Le traitement anaérobie peut être effectué dans des systèmes techniquement simples, et le processus peut être appliqué à n'importe quelle échelle et à presque n'importe quel endroit (Fukuhara, 2012).

‹ Les traitements biologiques sont d'autant plus efficaces avec des rejets liquides biodégradables ›.

VII.2 Traitement physico-chimique

VII.2.1 Traitement par flottation

C'est un procédé de séparation mécanique, qui a pour but de séparer les polluants solides présents dans les effluents liquides (Bazerli and Esnault, 2013). Zouboulis et *al.*, (2003) ont adopté la méthode de flottation comme une étape de post-traitement pour éliminer l'acide humique résiduel (composés non biodégradables) des lixiviats de décharges, près de 60% d'acide humique a été éliminé (Trabelsi, 2012).

VII.2.2 Traitement par coagulation floculation

Procédé physique, généralement réalisé à la suite de la décantation, pour clarifier un fluide qui contient des solides en suspension en le faisant passer à travers un milieu poreux constitué d'un matériau granulaire. La coagulation-floculation permet d'éliminer la matière organique

colloïdale, les MES mais aussi affecte la couleur et la turbidité (Figure 2) (Esnault, 2013; Bouchet, 2014).

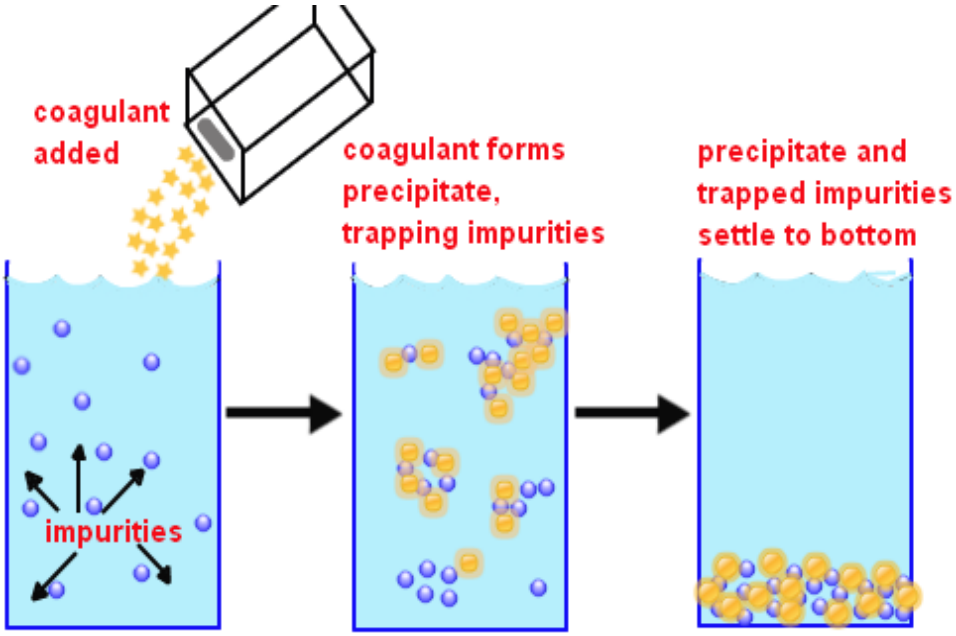


Figure 2: Principe du coagulation-floculation

VII.2.3 Traitement par adsorption

L'adsorption est un phénomène de surface qui est observé lorsque les molécules d'un fluide (adsorbat) entrent en contact avec une phase solide (adsorbant). Les interactions entre les deux éléments provoquent une « fixation » des molécules sur la surface du solide et l'apparition d'une phase plus dense dénommée phase adsorbée. En fonction de la nature de ces interactions, le phénomène d'adsorption est identifié comme physisorption ou chimisorption. Cette dernière est irréversible et caractérisée par des potentiels d'interaction élevés, ce qui entraîne des chaleurs d'adsorption de l'ordre des énergies des liaisons chimiques. L'adsorption physique ou physisorption est réversible et est accompagnée de chaleurs d'adsorption plus faibles (Sanchez, 2019).

VIII. Le traitement par filtration

La filtration peut être caractérisée par l'interaction mécanique ou physique utilisée pour séparer une substance d'une autre, comme les solides, les liquides et les gaz, à l'aide d'un milieu médiateur (filtre), c'est-à-dire à travers un milieu poreux ou un tamis qui retient les particules

solides (Shah and Rawal, 2016). Ainsi, il existe quatre types de filtration : La microfiltration, l'ultrafiltration, la nano-filtration et l'osmose inverse (Esnault, 2013).

Les films de microfiltration (MF) ont généralement une taille de pore dans la gamme de 0,1 et 10 µm où les pores sont répartis de manière cohérente dans toute la membrane. Le facteur de pression de fonctionnement est de 13 bars en utilisant un instrument de tamisage. L'étendue exceptionnellement large des tailles de pores montre que les couches MF peuvent être utilisées dans de nombreux domaines nécessitant la séparation de virus, de bactéries, d'aérosols et innombrables macromolécules des fluides. Les membranes MF peuvent être utilisées comme filtre de surface ou comme filtre en profondeur (Cassano and Basile, 2013).

L'ultrafiltration est un procédé membranaire caractérisé par l'utilisation d'une membrane microporeuse avec une taille de pores de 1 et 100 nm, est qui se caractérise par une structure asymétrique avec une couche de peau beaucoup plus dense, c'est-à-dire une taille de pores plus petite et une porosité de surface plus faible, ce qui produit une résistance hydrodynamique plus élevée (Maurel, 1993; Singh, 2015). Cette membrane laisse passer les petites molécules (eau, sels) et arrêtent les molécules de masse molaire élevée (polymères, protéines, colloïdes), pour la dite raison. Cette technique est utilisée pour l'élimination de macrosolutés présents dans les effluents ou dans l'eau à usage domestique, industriel (électronique) ou médical (Berland and Juery, 2002; Esnault, 2013; Pal, 2020).

La nanofiltration peut être utilisée pour traiter un large éventail d'eaux, y compris les eaux souterraines, les eaux de surface et les eaux usées, ou comme prétraitement pour le dessalement. Elle permet la séparation de segments dont la taille est proche de la gamme des nanomètres (par exemple 10 Å). La présentation de la NF comme prétraitement est considérée comme un bond en avant dans l'interaction du dessalement. Les membranes NF peuvent éliminer la turbidité, les micro-organismes, la dureté ainsi qu'une fraction des sels dissous (Berland and Juery, 2002; Koyuncu et *al*., 2015).

L'osmose inverse est une technique qui permet la séparation par membrane sous pression, avec une pression de fonctionnement de 1,5 à 12 MPa, qui peut éliminer tous les solides en suspension, les matières dissoutes et les colloïdes du mélange liquide, utilisée pour le dessalement de l'eau de mer, qui permet le passage d'eau et arrête les sels, aussi que pour la production d'eau potable, le traitement des eaux saumâtres et le traitement des eaux usées (Youcai, 2018b ; Dehdashti et *al*., 2020).



Figure 3: L'osmose inverse (Hoek et al., 2008)

IX. Le réacteur séquentiel discontinu (RSD)

IX.1 Généralités

L'intérêt pour les RSD a été relancé à la fin des années 1950 et au début des années 1960, avec le développement de nouveaux équipements et de nouvelles technologies. Les améliorations apportées aux dispositifs d'aération et aux contrôles ont permis aux RSD de concurrencer avec succès les systèmes conventionnels à boues activées (Gupta et al., 2012).

Au cours des cinq dernières années, nous avons constaté une augmentation de l'adoption des RSD et ils semblent être la technologie de choix pour les usines de digestion des déchets organiques traitant la liqueur de déshydratation (Smyth and Horan, 2015). Le RSD n'est qu'un système de boues activées qui fonctionne dans le temps plutôt que dans l'espace (Gupta et *al*., 2012). Les avantages du système RSD sont les suivants : simple et rentable ; possibilité de combiner les phases aérobie et anoxique dans un seul réacteur ; grande flexibilité du processus en termes de séquence et de durée du cycle (Suresh et *al*., 2011).

Les systèmes RSD ont été utilisés avec succès pour traiter les eaux usées municipales et industrielles (Irvine and Ketchum, 1989). Ce procédé de traitement a subi plusieurs modifications mineures et majeures au cours des dernières années, afin d'être capable de traiter efficacement les eaux polluées (Dutta and Sarkar, 2015).

IX.2 Performance

Le fonctionnement d'un RSD est basé sur quatre étapes : remplissage, agitation, décantation, soutirage.

- **Remplissage :**

Pendant la phase de remplissage, le bassin reçoit l'effluent, qui apporte des nutriments aux microorganismes dans la boue activée, créant un environnement pour que les réactions biochimiques aient lieu. L'agitation et l'aération peuvent être modifiés pendant la phase de remplissage pour créer les trois scénarios suivants (Poltak, 2005).

- **Agitation et aération:**

Au cours de la phase d'agitation, on continue à insuffler de l'air dans le réacteur de manière à ce que les microorganismes respirent et consomment la matière organique. Le but de la phase d'agitation est de permettre d'achever les réactions qui ont démarré en phase de remplissage. Le réacteur ne reçoit plus aucun effluent à cette phase de l'épuration (Ducorps, 2009).

- **Décantation :**

La phase de décantation permet aux flocs formés pendant la réaction de sédimenter au fond du réacteur. L'eau clarifiée en surface est alors évacuée au cours de la phase de soutirage.

Pendant cette phase, on laisse les boues activées se déposer dans des conditions de quiescence et il n'y a ni aération ni agitation (Ducorps, 2009).

- **Soutirage :**

Au cours de cette phase, le surnageant est éliminé du réacteur. Le taux de soutirage dans le réacteur est régulièrement contrôlé à l'aide de turbidimètres, afin d'arrêter le rejet de l'eau traitée lorsque le degré supérieur de sédimentation dans le réacteur est atteint (Ducorps, 2009). La quantité d'eaux soutirées est égale à celle qui rentre pendant la phase de remplissage.

X. Les cendres volantes

Les cendres volantes, est un résidu de la combustion du charbon à haute température (Jala and Goyal, 2006)**,** Les cendres volantes à charbon sont classées parmi l'adsorbant a le plus silico-alumineux, permettant généralement une excellente adsorption des métaux importants, contrairement à d'autres grilles de filtration. Les oxydes de fer (Fe_2O_3) et les oxydes d'aluminium (Al_2O_3) présents dans les cendres volantes jouent un rôle essentiel dans la rétention des particules métalliques.

Les cendres volantes représentent environ 500 000 tonnes de déchets provenant de la station hermique d'El Jadida. Les cendres volantes sont une poudre dont les nuances fluctuent en fonction de la teneur en carbone (gris clair au gris foncé) et de la teneur en oxyde de fer (gris clair au marron foncé). Des études ont montré que l'utilisations des cendres volantes peut accélérer la biodégradation des déchets (Merzouki and Amakdouf, 2019).

XI. Traitement par Bio-augmentation

La bio-augmentation au sens large est l'introduction de micro-organismes dotés de capacités cataboliques spécifiques dans des environnements contaminés pour permettre ou accélérer la dégradation des polluants ciblés (Shao et *al*., 2014), ainsi les meilleurs résultats en bio-augmentation ont été atteint avec des microbes qui ont été isolés du même environnement, car ce genre de microbes isolés sont adaptés, tandis que les microbes introduits seront mis en compétition (Jia et *al*., 2019).

Deux méthodes particulières de la bio-augmentation ont été créées. La première repose sur l'infusion des micro-organismes dotés du potentiel catabolique idéal pour compléter ou supplanter la population de micro-organismes indigènes. Dans ce cas, les bactéries ou les consortium choisis peuvent supporter et surpasser les microorganismes locaux, et impliquer une spécialité métabolique particulière dans l'environnement contaminé. La deuxième approche de bio-augmentation s'appuie sur l'addition d'une forte concentration de cellules qui agissent momentanément comme des biocatalyseurs et dégradent une quantité importante du contaminant ciblé avant de devenir une source de contamination (Silva and Alvarez, 2010).

XII. La métagénomique

XII.1 L'histoire de la métagénomique

La « métagénomique » a vu le jour pour la première fois en 1998. Elle a été proposée par Handelsman (Handelsman et *al*., 1998), comme «les génomes collectifs de la microflore du sol», et a été approchée pour étudier l'information génétique des populations. Par la suite, la «métagénomique» a été définie comme «l'analyse fonctionnelle et basée sur la séquence des génomes microbiens collectifs contenus dans un échantillon environnemental » (Handelsman et al., 1998).

Depuis la première application de la métagénomique, elle est devenue une méthode fiable pour étudier la diversité microbienne dans des communautés environnementales spécifiques, en analysant des gènes sélectionnés tels que l'ARNr 16 S (Kumar Awasthi et *al*., 2020).

La métagénomique est une méthode permettant d'étudier la génomique de communautés entières de formes de vie microscopiques sans culture des organismes. La recherche métagénomique nous permet d'identifier les micro-organismes, ou l'ADN libre qui existent dans l'environnement naturel en identifiant les gènes ou les séquences d'ADN des organismes. Le terme méta, qui signifie plus complet, est également utilisé dans la méta-analyse, qui consiste à combiner des analyses séparées. La métagénomique est identique à la génomique dans son approche. La différence entre la génomique et la métagénomique réside dans la nature de l'échantillon. La génomique se concentre sur un organisme, tandis que la métagénomique traite un mélange d'ADN provenant de plusieurs organismes (Xu, 2006; Wooley et *al*., 2010; Mukherjee and Ghosh, 2016).

XII.2 Différents types de métagénomique

Les deux méthodes les plus utilisées pour l'identification des pathogènes pour les données à haut débit sont, premièrement la méthode basée sur l'amplicon qui comprend l'ARN ribosomal 16S pour les bactéries, ITS et la région 18S pour les champignons et les eucaryotes, respectivement.

- **La metagenomique shotgun ou métagénomique globale** : Elle consiste à fragmenter l'ensemble des ADNs présents dans un échantillon en petits fragments puis les séquencer à l'aide d'un séquenceur haut débit. Les séquences (ou reads) obtenues sont ré-assemblées à l'aide d'outils bioinformatiques afin de reconstruire les génomes bactériens d'origine (Champion, 2021). Cette stratégie permet de décrire globalement le fonctionnement du microbiote en séquençant l'ensemble des gènes présents. La capacité d'identifier la majorité des organismes (bactéries cultivables et non cultivables) dans l'échantillon environnemental, elle peut fournir une classification hautement résolue et des informations fonctionnelles au niveau de la souche (Ghosh et al., 2018; Systems et al., 2018). Le séquençage est effectué pour le profilage taxonomique (diversité et abondance), ainsi que l'analyse fonctionnelle. Cette technique complexe permet un séquençage parallèle de l'ADN de tous les organismes de l'échantillon, avec une couverture de séquençage élevée, elle permet par analyse bioinformatique des assemblages de génomes.
- **La métagénomique ciblée** : Cette stratégie consiste à séquencer un gène particulier au lieu d'un génome complet. Ce gène doit être commun à plusieurs espèces (Universalité) tout en présentant des régions suffisamment variables, afin de discriminer entre les

différentes espèces. En microbiologie, le gène utilisé est celui de l'ARN 16S/18S ou ITS pour séquencer une courte région d'intérêt de quelques dizaines à quelques milliers de nucléotides, on réalise une étape d'amplification PCR (Polymerase Chain Reaction) préalable au séquençage (Péricard, 2017; Champion, 2021).

XIII. Caractérisation de la diversité d'une communauté microbienne

L'unité taxonomique opérationnelle (OTU) ou phylotype est une séquence d'ADN environnementale ou un groupe de séquences partageant plus qu'un niveau de similarité arbitrairement choisi d'un marqueur génétique particulier (Moreira and López-García, 2011).

Il y a deux manières principales, afin de caractériser la diversité de la communauté. L'étude de la structure d'une communauté consiste à observer la distribution du nombre total d'individus entre les différentes OTUs de la communauté. On tient alors compte de l'abondance de chaque OTU (Zened, 2011). On peut également s'intéresser à l'étude de la richesse qui comptabilise simplement le nombre d'OTUs constituant la communauté. Ces observations sont réalisées sur la base des informations contenue dans les banques de clones réalisées. Les banques de clones ne permettent pas d'échantillonner de façon exhaustive la diversité rencontrée dans l'échantillon original. Notre vision de la diversité est donc réduite et plusieurs méthodes permettent d'évaluer la représentativité des banques de clones par rapport à l'échantillon originel aussi dénommée "couverture" (Champion, 2021).

XIII.1 La diversité alpha

La diversité alpha est appliquée à l'analyse de la diversité des communautés microbiennes au sein de l'échantillon, en analysant la diversité de l'échantillon unique (diversité alpha) qui peut refléter la richesse et la diversité des communautés microbiennes dans chaque échantillon, y compris la boite d'accumulation d'espèces, les courbes de biodiversité et une série d'analyses statistiques (Thukral, 2017; Champion, 2021).

XIII.2 Evaluation de la couverture

XIII.2.1 Les courbes d'accumulation et l'étude de la raréfaction

Les courbes d'accumulation, appelées aussi courbes collectrices, décrivent comment la richesse, ou la diversité augmentent en fonction de l'effort d'échantillonnage et de séquençage. Elles sont également utilisées pour déterminer si la diversité a été échantillonnée de manière exhaustive. Le nombre de phylotypes augmente avec le degré d'effort de l'échantillon, jusqu'à

atteindre une vision complète de la diversité (saturation). A ce niveau, aucun autre nouveau phylotype ne peut être obtenu à partir de l'échantillon. Une courbe de forme asymptotique indiquera que l'on a atteint ce palier et que peu de nouveaux phylotypes pourront être identifiés en séquençant davantage de clones, ou en obtenant de nouveaux reads. En revanche, une courbe de type curvilinéaire indique que la richesse en phylotype est sous-estimée par rapport à la source environnementale ou l'effort de séquençage. Les courbes d'accumulation sont parfois extrapolées pour estimer le nombre total de phylotypes hypothétiquement présents, cependant, ce chiffre est très dépendant de la méthode d'extrapolation utilisée (Riviere, 2009; Calderan, 2018; Marcon, 2018).

XIII.2.1.1 La formule de Good

La formule de couverture de Good est un estimateur non-paramétrique de la proportion de phylotypes dans une banque de taille infinie qui serait représentés dans une banque de plus petite taille. Comme définie par Good, la couverture C se calcule de la façon suivante (Good, 1953):

$$C = [1- (n/N)]\times 100$$

n : représente le nombre de phylotypes, n'apparaissant qu'une fois, c'est à dire le nombre d'OTUs à une seule séquence.

N : taille de la librairie, c'est à dire le nombre total de clones séquencés.

Autrement dit, cette formule permet de calculer la probabilité pour un nouveau clone séquencé de définir à lui seul une nouvelle OTU et donc d'apporter une nouvelle information.

XIII.3 Estimation de la richesse d'une communauté

Concernant l'estimation de la richesse spécifique (nombre d'espèces), l'intérêt s'est porté principalement sur les méthodes d'analyse des données (courbes d'accumulation d'espèces et modèles paramétriques d'abondance relative des espèces) et les méthodes théoriques d'échantillonnage (estimateurs non paramétriques) (Vanpeene-bruhier, 1998; Brose, 2002) .

XIII.3.1 Les estimateurs paramétriques

Historiquement, ce sont les premiers estimateurs qui ont été utilisés. Leur principe est d'extrapoler la courbe d'accumulation et de prédire son asymptote à l'aide d'un modèle. Ceci permet de prédire le nombre total d'espèces à partir des données empiriques à disposition.

Différents types de distributions paramétriques ont été utilisés tels que les lois de Poisson, lognormal, binomiale négative ou encore Michaelis-Menten pour faire une approximation (Hara, 2005).

Cette approche implique de faire des hypothèses sur le taux de découverte de nouvelles espèces sans réel fondement biologique.

XIII.3.2 Les estimateurs non-paramétriques

Les méthodes non paramétriques ne supposent pas une distribution de probabilité de population, et sont donc valables pour les données de toute population avec une distribution de probabilité, qui peut rester inconnue. Les méthodes non paramétriques sont parfaitement robustes pour les hypothèses de distribution sur la population, car elles sont également valables pour toutes les hypothèses. Si la fonction de distribution de population a des queues plus légères que la distribution normale, comme la distribution uniforme, alors les procédures paramétriques basées sur l'hypothèse de normalité ont généralement une bonne puissance, égale ou supérieure à la puissance des méthodes non paramétriques basées sur les rangs (Conover, 2008).

XIII.3.2.1 Estimateur ACE (Abundance Coverage Estimator)

L'ACE (Abundance-based Coverage Estimator) de la richesse des espèces est basé sur le concept de « couverture d'échantillons » ou simplement de « couverture », qui a été développé à l'origine pour les analyses cryptographiques pendant la seconde guerre mondiale par le fondateur de l'informatique moderne, Alan Turing, et son collègue IJ Good. Pour appliquer le concept de couverture d'échantillon à l'estimation de la richesse spécifique, une valeur seuil κ est nécessaire pour séparer les fréquences des espèces en groupes « rares » (fréquence ≤ κ) et « abondants » (fréquence > κ). Le seuil κ =10 fonctionne bien pour de nombreux ensembles de données empiriques (Chao, 2015, 2014; Niversity et *al*., 2016).

La couverture est alors définie par la proportion d'individus présents dans des phylotypes rares (≤10 clones) et que l'on retrouve plus d'une fois.

$$C_{ACE} = 1 - \frac{F1}{N_{rare}}$$

F1 : représente le nombre de phylotypes n'apparaissant qu'une fois, c'est à dire le nombre d'OTUs à une séquence

Nrare : c'est le nombre total d'individus appartenant à des phylotypes rares soit le nombre de clones appartenant à des OTUs de moins de 10 séquences

XIII.3.2.2 Estimateur Chao1

l'estimateur Chao 1 calcule la vraie diversité d'espèces estimée d'un échantillon par l'équation (Chao, 2018; Colwell and Coddington, 1994):

$N_{Chao1} = S_{obs} + \frac{n1(n1-1)}{2(n2+1)}$ Quand n1>0 et n2 ≥ 0 et quand n1=0 et n2=0

$N_{Chao1} = S_{obs} + \frac{(n1)^2}{2(n2)}$ Quand n1=0 et n2 ≥ 0

S_{Chao1} = Estimateur de Richesse

S_{obs} = Nombre d'OTUs observées

n1 = Nombre d'OTUs à 1 séquence

n2 = Nombre d'OTUs à 2 séquences

Un intervalle de confiance de 95% peut être calculé en faisant l'hypothèse que la variance suit une distribution lognormal.

XIII.4 Traduction de la structure d'une communauté

XIII.4.1 Les indices de diversité

Les indices de diversité sont fréquemment appliqués sous forme de ratios de diversité absolue à la diversité maximale possible. Que la diversité maximale soit définie comme étant limitée par le nombre d'espèces ou par le nombre d'individus présents, il peut être démontré que les indices résultants possèdent des qualités mathématiquement indésirables (PEET, 2013).

L'indice de diversité est une mesure mathématique de la diversité des espèces dans un échantillon donné. Ces indices donnent des informations sur la composition d'un échantillon et sur sa richesse en espèces. Ces indices nous renseignent en plus sur la rareté ou l'abondance des espèces dans l'échantillon étudié. On distingue:

XIII.4.1.1 Indice de Shannon-Weaver (H')

L'un des indices les plus largement utilisés pour quantifier une biodiversité spécifique est l'indice de Shannon, également connu sous le nom de Shannon-Weaver. L'indice reflète l'hétérogénéité d'une communauté en fonction de deux facteurs : le nombre d'espèces présentes et leur abondance relative. Autrement dit, si une communauté d'espèces H est très homogène,

par exemple parce qu'il y a une espèce clairement dominante et que les espèces H-1 restantes sont à peine présentes, le degré d'incertitude sera plus faible que si toutes les espèces H étaient également abondantes. C'est-à-dire qu'en prenant un individu au hasard, dans le premier cas on aura un degré de certitude plus élevé (moins d'incertitude, produit d'une entropie plus faible) que dans le second. Tandis que dans le premier cas, la probabilité qu'il appartienne au espèce dominante elle sera proche de 1, supérieure à toute autre espèce. Dans la seconde la probabilité elle sera la même pour n'importe quelle espèce (PLA, 2006)**.**

$$H' = -\sum_{i=1}^{S} \frac{n_i}{N} \ln \frac{n_i}{N}$$

ni : représente le nombre de séquences dans l'OTU i

S : le nombre total d'OTUs

N : le nombre total de séquences

XIII.4.1.2 Indice de Simpson (D)

L'indice de Simpson mesure la probabilité que deux individus sélectionnés au hasard appartiennent à la même espèce :

$$D = \Sigma\ Ni(Ni-1)/N(N-1)$$

Ni : nombre d'individus de l'espèce donnée.

N : nombre total d'individus.

Cet indice aura une valeur de 0 pour indiquer le maximum de diversité, et une valeur de 1 pour indiquer le minimum de diversité. Dans le but d'obtenir des valeurs « plus intuitives », on peut préférer l'indice de diversité de Simpson représenté par 1-D, le maximum de diversité étant représenté par la valeur 1, et le minimum de diversité par la valeur 0.

Il faut noter que cet indice de diversité donne plus de poids aux espèces abondantes qu'aux espèces rares. Le fait d'ajouter des espèces rares à un échantillon, ne modifie pratiquement pas la valeur de l'indice de diversité (Bouchez et al., 2010; Ousmane et *al*., 2013).

XIII.5 Les logiciels accessibles

Le tableau 4 représente les logiciels utilisés pour la réalisation des opérations sur les séquences d'ADN, de l'assemblage à l'analyse statistique.

Tableau 4: les différents logiciels utilisés pour la caractérisation phylogénétique.

Analyse standard	Logiciel
Fractionnement des données et fusion des lectures	FLASH
Contrôle de la qualité des données : filtrage des données et suppression des chimères	QIIME
Regroupement des OTU (Unités taxonomiques opérationnelles) et annotation des espèces, y compris la carte thermique des OTU, l'affichage GraPhlAn, la taxonomie Arbre, résultats KRONA	Uparse, PyNast, Mothur
Distribution des espèces, y compris Ternary plot , Species Abundance Heatmap, l'arbre évolutif du genre.	RDP,Blast(ITS)
Analyse de la diversité alpha, y compris le tableau des indices alpha (espèces observées, couverture de Good, Chao1, ACE, Shannon, Simpson, arbre entier PD), courbes de diversité des espèces, boxplot, d'accumulation d'espèces, diagramme de Venn et de fleurs (jusqu'à 5 chiffres gratuits)	QIIME, R
Analyse de la diversité bêta, y compris la carte thermique de la diversité bêta, l'analyse de distance unifrac (non) pondérée, PCA (analyse en composantes principales), PCoA (analyse des coordonnées principales), UPGMA (méthode de groupe de paires non pondérées avec moyennes arithmétiques), MetaStat, analyse LEfSe.	QIIME, R

- **MOTHUR :**

MOTHUR est un progiciel complet qui permet aux utilisateurs d'utiliser un seul logiciel pour analyser les données de séquences communautaires gratuit et open source. C'est un outil qui permet de regrouper les séquences, en OTUs quelle que soit la base de données en utilisant un algorithme de regroupement ("clustering algorithm") (López-García et *al*., 2018; Schloss et *al*., 2009).

Trois algorithmes sont disponibles :

- L'algorithme du voisin le plus éloigné ou "furthest neighbour" : toutes les séquences faisant partie de l'OTU ont au maximum 3% de différences entre elles

- L'algorithme du voisin le plus proche ou "nearest neighbour": chaque séquence de l'OTU a un maximum de différence de 3% avec au moins une séquence de l'OTU

- L'algorithme du voisin moyen : prend une distance moyenne pour former les OTUs (Schloss and Handelsman, 2005).

- **QIIME :**

QIIME est une application logicielle qui effectue l'analyse de la communauté microbienne. C'est un acronyme pour ' **Quantitative Insights Into Microbial Ecology** ', il a été utilisé pour analyser et interpréter les données de séquences d'acides nucléiques provenant de communautés fongiques, virales, bactériennes et archéennes. QIIME est conçu pour extraire les utilisateurs des données de séquençage brutes générées sur Illumina ou d'autres plates-formes afin de fournir des affichages graphiques qui permettent aux utilisateurs d'interagir avec les données de qualité de publication (Caporaso et *al*., 2010; Kuczynski et *al*., 2011).

- **R :**

R est un environnement logiciel libre, particulièrement puissant pour les statistiques et les calculs graphiques. Il peut être compilé et exécuté sur diverses plates-formes UNIX, Windows et MacOS (Data et *al*., 2008) .

R est un logiciel dans lequel de nombreuses techniques statistiques modernes et classiques ont été implémentées. Les méthodes les plus courantes permettant de réaliser une analyse statistique telles que :
– statistique descriptive ;
– tests d'hypothèses ;
– analyse de la variance ;
– méthodes de régression linéaire (simple et multiple) (Neveu, 2009).

Parmi ses caractéristiques particulièrement intéressantes, on note :

- des procédures efficaces de traitement des données et des capacités de stockage de ces données ;
- une suite d'opérateurs pour des calculs sur des tableaux et en particulier sur des matrices ;
- une vaste et cohérente collection de procédures statistiques pour l'analyse de données ;

- Des capacités graphiques évoluées ;
- l'excellente qualité des graphiques (Neveu, 2009; Goulet, 2012; Kop, 2019).

- **Flash :**

FLASH (Fast Length Adjustment of SHort Reads) est un outil logiciel très rapide et précis pour déterminer le bon chevauchement correct, entre les lectures appariées et étendre les lectures en les assemblant à partir d'expériences de séquençage de nouvelle génération. En outre FLASH est destiné pour fusionner des paires de lectures lorsque les fragments d'ADN d'origine sont plus courts que le double de la longueur des lectures. Il permit aussi de calculer la longueur de chevauchement. Si un « N » apparaît dans la région de chevauchement, il n'est pas pris en compte dans la longueur de chevauchement (Magoč and Salzberg, 2011).

- **UPARSE :**

UPARSE est une méthode de génération de clusters (OTU) à partir de lectures de séquençage de nouvelle génération de gènes marqueurs tels que l'ARNr 16S, la région ITS fongique, le gène COI.

Selon Edgar, R.C, UPARSE permis d'obtenir des séquences représentatives des OTUs de manière plus précises que les séquences biologiques, et le nombre d'OTU est beaucoup plus proche du nombre d'espèces. C'est-à-dire, les OTUs UPARSE sont classées comme parfaites, bonnes ou contaminants, ce qui suggère qu'il s'agit de reconstitutions précises de séquences biologiques (Edgar, 2013).

Partie II: Matériel et Méthodes

Chapitre I : Traitement des lixiviats par le réacteur séquentiel discontinu couplé à la colonne de filtration

Introduction

Les décharges sont utilisées pour gérer et éliminer les déchets solides municipaux mais produisent de grandes quantités de lixiviat. La complexité des lixiviats des sites d'enfouissement entraîne de graves problèmes sur l'environnement et la santé humaine (Vaverková et *al*., 2020; Parvin and Tareq, 2021). Par conséquent, les effluents des sites d'enfouissement ou lixiviats doivent être traités avant d'être rejetés dans les ressources naturelles ou les égouts afin de réduire leurs impacts négatifs et de répondre aux normes réglementaires. La présente étude se focalise sur le traitement biologique et physique des lixiviats de la décharge contrôlée de Fès, en utilisant un réacteur séquentiel discontinu (RSD) couplé à un système de filtration. En outre, ce système de traitement est capable d'éliminer la plupart des contaminants. Ainsi, le présent réacteur séquentiel discontinu a prouvé son efficacité pour le traitement des lixiviats de décharge à l'échelle pilote, favorisant son développement pour un produit commercial à grande échelle correctement conçu et mis en œuvre reste une idée futuriste.

I. Présentation du site expérimental

I.1 Le groupe ECOMED Maroc

Le Groupe **ECOMED** est une société holding marocaine, composée de 2 organisations américaines **GLOBAL ENVIRONMENTAL SUSTAINABILITY, Inc. (GESI)** chargée des études d'assainissement et **EDGEBORO INTERNATIONAL Inc. (EII)** spécialisée dans la construction, l'exploitation et l'entretien de décharges**,** fondée au Maroc en 2008 (Zaier et *al*., 2013).

Le groupe ECOMED a pu se développer en créant des agences pour garantir, à long terme de l'achèvement des travaux d'assainissement des déchets solides, dont il a obtenu la concession et leur administration dans différentes zones urbaines du Maroc. Jusqu'à présent, ECOMED a réussi à s'implanter dans sept villes: Mohammadia, Marrakech, Laayoun, Dakhla, Fes, Ifran et Sefrou (figure 4).

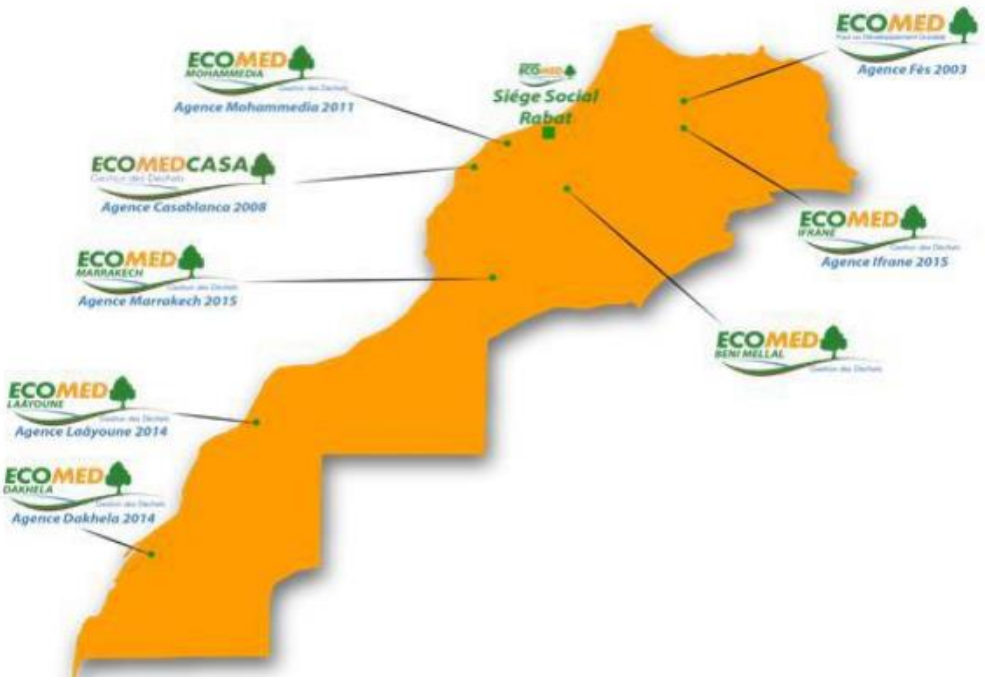


Figure 4: Implantation du groupe ECOMED dans le Maroc (ECOMED, 2012).

I.2 La décharge contrôlée de la ville de Fès

La décharge contrôlée de la ville de Fès a été créé depuis 2004, dans le cadre d'un contrat, de gestion déléguée de 30 ans avec la Commune Urbaine de Fès. Elle traite tous les jours entre 750 à 1200 tonnes de déchets solides (Bouaiche zakaria, 2018). La décharge de Fès reçoit une variété de déchets solides, comme le montre la figure 5.



Figure 5: Les déchets reçus par la décharge contrôlée de la ville de Fès.

La décharge comprend aussi une station de soutirage et de traitement de biogaz (photos 2 et 3), par la conversion du biogaz en énergie électrique. La ville de Fès est la première au Maroc voire même en Afrique qui a exploité l'énergie générée à partir du biogaz issu des déchets, d'une puissance de 1,12 mégawatts. Cette centrale couvre dès à présent 30% environ des besoins de la ville de Fès.



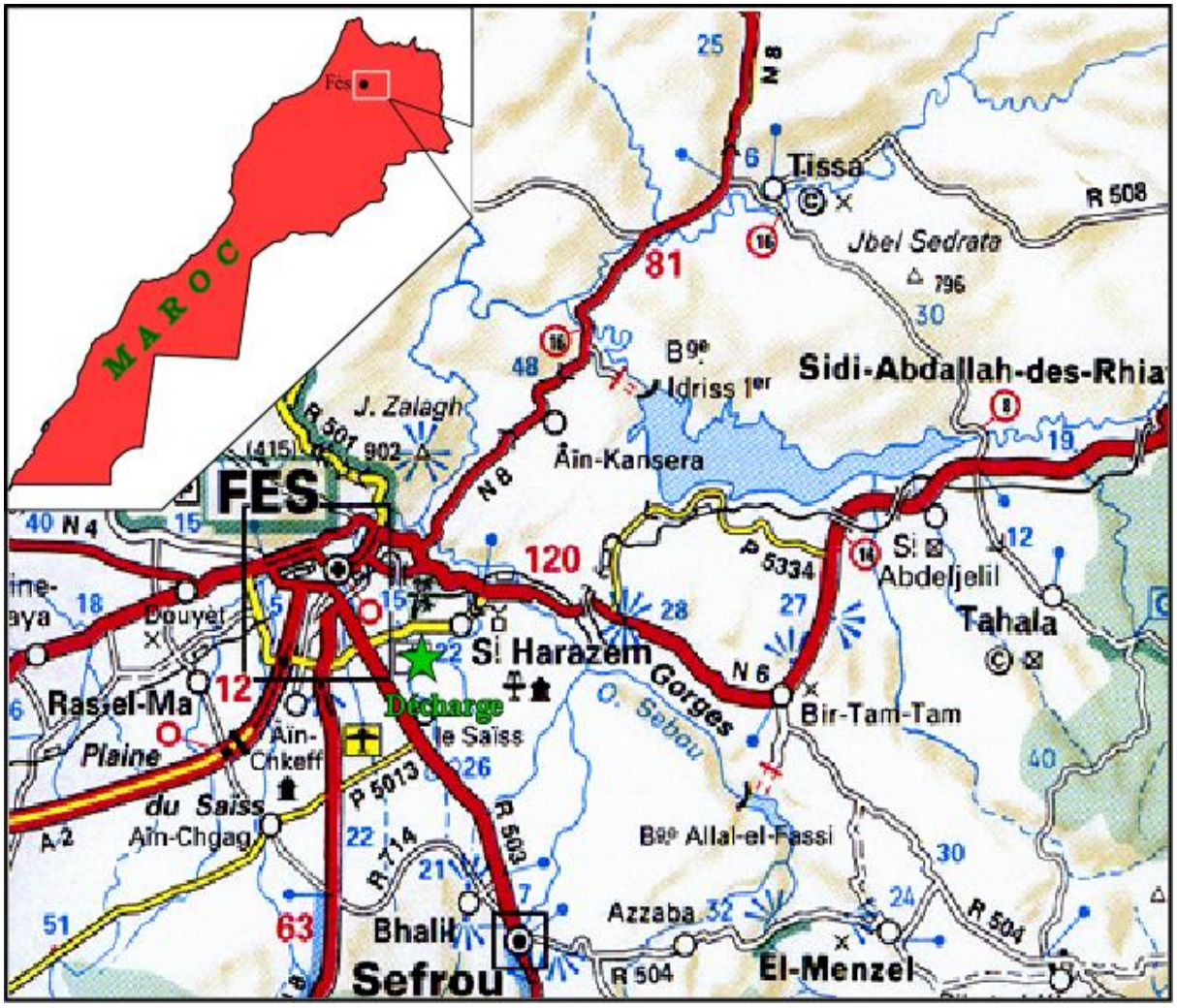
Photo 2: Station de soutirage du biogaz (la torchère)



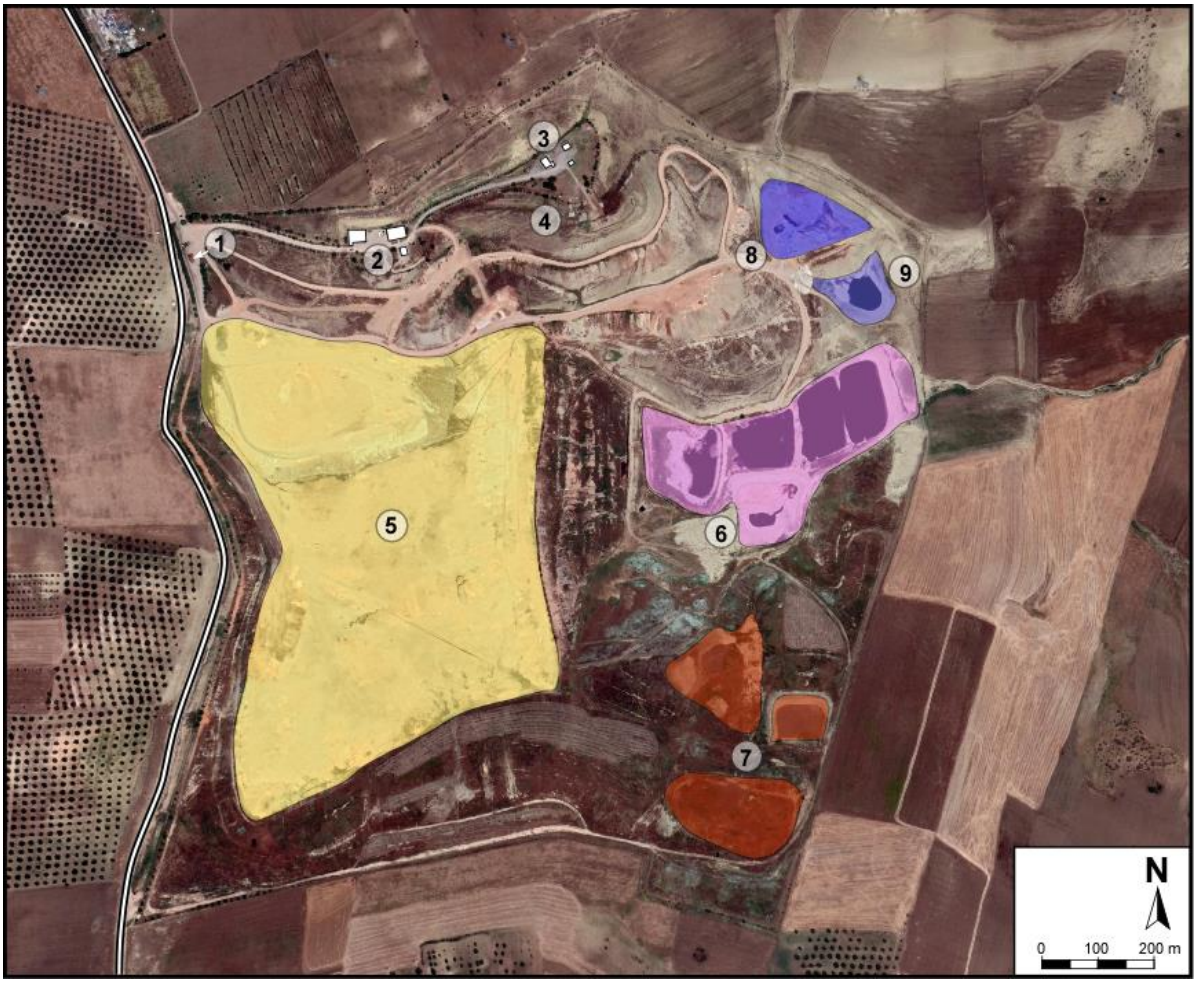
Photo 3 : Co-générateur bioélectrique

I.3 Localisation du site

La décharge contrôlée de la ville de Fès, située au niveau de la commune de Ain Bida, à 12 km du centre-ville et à 3 km du complexe sportif sur la route de SIDI HRAZEM (carte 1). Cette dernière s'étale sur une superficie de 110 ha (carte 2).



Carte 1: Localisation géographique de la décharge



Carte 2 : La structure de la décharge contrôlée de la ville de Fès

1. **•La salle de pesage et de contrôle**
2. **•l'administration**
3. **•La station de soutirage et du traitement de biogaz**
4. **•Le pilote**
5. **•le site d'enfouissement**
6. **•les bassins des lixiviats**
7. **•les bassins des boues**
8. **•le site d'enfouissement des rejets de tannage**
9. **•bassin de l'effluent de tannerie**

La décharge est constituée par deux sites d'enfouissement, un pour les déchets ménagers et l'autre pour l'enfouissement des rejets de tannage, un réseau de collecte des lixiviats et biogaz et des réseaux de collecte et d'évacuation des eaux de pluie. La décharge est aussi dotée d'un bâtiment d'exploitation, d'un atelier, d'une station de soutirage et de traitement de biogaz dans un

Co-générateur qui a pour fonction de convertir les composés inflammables ou toxiques du gaz en composés inertes ou peu toxiques (carte 2) (Meres, 2009).

I.4 Choix du site

Le site est bien situé, à l'écart de la ville mais suffisamment éloigné pour que les déchets ne se transportent pas sur de longues distances. Une autre raison très importante, c'est la nature géologique du sol, le site est constitué par l'argile, qui est considéré comme une barrière imperméable (Impe and Bouazza, 1996). La couche d'argile est de plus de 50 m de profondeur. Des études ont été effectués et ont montré que plus on va vers la profondeur, plus l'argile devient imperméable.

I.5 Le site d'enfouissement

À l'arrivée des déchets collectés par les camions dans la décharge, les déchets seront contrôlés pour vérifier leur compatibilité avec les caractéristiques d'admission. Par la suite, les déchets sont déposés sur le site d'enfouissement et les tracteurs D6 sont utilisés pour les épandre et former une couche de 15 cm et la recouvrir d'une couche de 15 cm de sol. Le site d'enfouissement est composé de quatre cellules, dont trois sont remplies jusqu'à une hauteur de 44 m (Photo 4). La décomposition des matières organiques engendre la formation des lixiviats et le biogaz, la gestion consiste à les collecter, à travers des réseaux de collecte du biogaz et du lixiviat qui sont installés sous les couches de déchets.

Sur le casier il y a un collecteur central du biogaz et des lixiviats et des ramifications latérales sous forme « d'arête de poisson » (figure 6) et qui sont espacées de 75 m et reliées aux têtes de puits, dont 20 puits sont reliés à la station. En ce qui concerne les lixiviats ils sont acheminés vers bassins de stockage (photo 5).



Photo 4: Site d'enfouissement

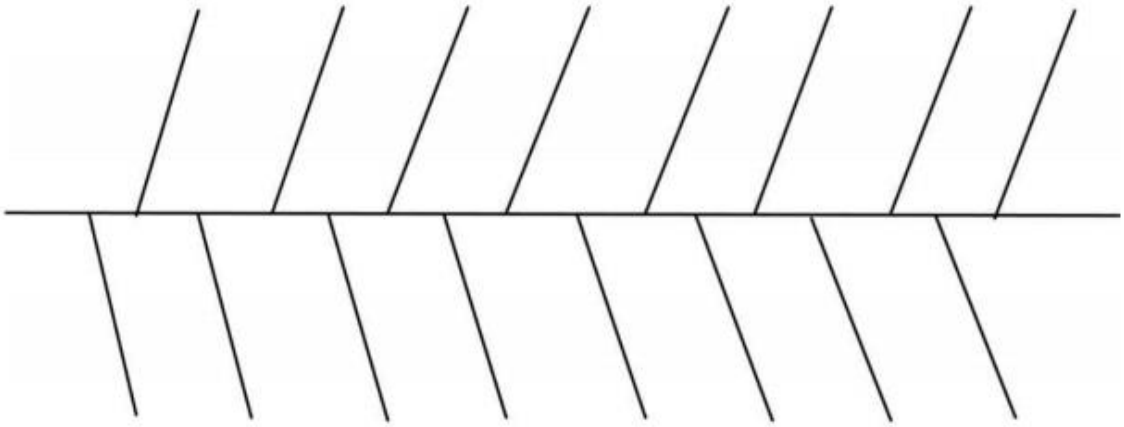


Figure 6: Format des réseaux de collecte



Photo 5 : Les bassins de stockage des lixiviats

II. Description du procédé

II.1 Traitement biologique par RSD (Réacteur séquentiel discontinu)

Nous avons installé le pilote dans le site de la décharge contrôlée de la ville de Fès sur une plateforme en béton armé. Cette installation a été effectuée le 6 mars 2017 par la société SMT GLOBAL qui nous a livré toutes les composantes du pilote. Ce pilote est constitué des cuves suivantes (photo 6):

- Une cuve d'aération (RSD) d'un volume total de 10 m^3, d'un diamètre de 2 m et d'une hauteur de 2,7 m.
- Trois cuves de filtration d'un volume de 3 m^3 chacune.
- Une armoire électrique.
- Trois pompes péristaltiques (15 à 400 l/h).
- Un aérateur-agitateur.
- Canalisation d'alimentation.



Photo 6: Le pilote



Photo 7: La boue activée

La cuve d'aération est un réacteur séquentiel discontinu (RSD) qui fonctionne par cycle. Elle est ensemencée avec des boues venant de la station d'épuration de la ville de Fès d'un volume de 6%, soit 2,4 m^3. Ces boues étaient caractérisées au départ par une couleur noirâtre (photo 7) et d'une matière en suspension de l'ordre de 16 g/l. Par la suite les boues ont changé de couleur

et devenues marron à cause d'une bonne oxygénation de la cuve, dont la concentration en oxygène dissous était comprise entre 3 et 6,7 mg/l. Nous avons alimenté au départ la cuve avec un faible débit de lixiviats de l'ordre de 1,25 m^3/j, avec un volume utile de 6 m^3, dans le but d'adapter la biomasse des boues avec les lixiviats qui sont trops chargées en matières organiques. Le type d'aération est en surface et à vitesse lente à axe verticale. Le traitement des lixiviats dans le RSD est basé sur les conditions suivantes :

- Débit d'alimentation : 500 L à 1,25 m^3/j
- Volume de la liqueur mixte : 3,5 m^3
- Volume utile du RSD : 6 m^3
- Traitement avec un cycle par jour
- Durée d'aération : 20 heures, avec 20 Kg /h
- Durée de décantation : 2 h

III.Traitement par filtration sur colonne avec des cendres volantes

Les lixiviats bruts traités dans la cuve d'aération (RSD) sont acheminés vers la colonne de filtration avec les dimensions suivantes :

- Trois cuves de 3 m^3 chacune: une pour le stockage des lixiviats après traitement en RSD et les deux autres pour la filtration.
- Les deux cuves de filtration sont garnies avec un support naturel (les cendres volantes), d'une granulométrie de 20 µm.
- Les deux cuves sont garnies d'une couche de 20 cm du gravier grossier et d'une couche de 15 cm du gravier fin. Au-dessus de ces couches, les cendres volantes sont déposés sur une couche de 65 cm.
- Un sprinkler pour chaque cuve de filtration, afin d'arroser les lixiviats sur la colonne d'une manière homogène.

IV. Les méthodes d'analyses

IV.1 Analyses physico-chimiques

L'évaluation de la performance du traitement a été démontrée par plusieurs analyses physico-chimiques de l'effluent brut, le surnageant et le filtrat issu après filtration. Ces analyses ont été effectuées une fois par semaine:

IV.1.1 La demande chimique en oxygène (DCO)

La DCO est une mesure indicative de la quantité d'oxygène qui peut être consommée par les réactions dans une solution mesurée, elle est généralement exprimée comme la masse d'oxygène consommée par rapport au volume de la solution (Li and Liu, 2019).

L'oxydation de la matière organique par du dichromate de potassium (K2Cr2O7) en milieu acide et en présence de sulfate d'argent comme catalyseur, puis chauffage à 150°C pendant 2 heures. Les valeurs de la DCO sont par spectrophotomètre UV du type SELECTA (LIB-030M, Spain), à une longueur d'onde de 585 nm. Elle est exprimée en mg d'O2/l (Rodier et *al*., 2009).

IV.1.2 La demande biologique en oxygène (DBO_5)

La demande biochimique en oxygène est la quantité d'oxygène nécessaire aux bactéries pour consommer les matières organiques présentes dans l'eau pendant 5 jours, elle exprime la quantité de matière organique biodégradable contenue dans une eau (Bajpai, 2018). Sa détermination consiste à incuber un volume (V) de l'échantillon estimé à partir de la DCO et le mettre dans un DBO-mètre de type OxitopR IS6 (ET 618-4/619-4) à l'obscurité à une température de 20°C et pendant 5 jours. Elle est exprimée en milligramme dans un litre d'eau.

IV.1.3 Les ions ammonium

L'azote ammoniacal se présente sous la forme toxique NH_4+. Sa présence dans les eaux traduit habituellement le processus de dégradation incomplète de la matière organique (Chibani sana, 2010). L'analyse se fait en milieu alcalin et en présence de nitroprussiate de sodium qui agit comme catalyseur (Beulen, 2011). Il est dosé par spectrophotomètre à une longueur d'onde de 630 nm.

IV.1.4 Les nitrates

Les nitrates (NO_3) proviennent de l'oxydation complète des composés de l'azote (Ben aakame et al., 2019).

Le principe du dosage des nitrates se base sur la formation d'un complexe paranitro-salicylate de sodium en présence du salicylate de sodium. Ce complexe est coloré en jaune et absorbe la lumière à 415 nm (Rodier et *al*., 2009).

IV.1.5 Les nitrites

Le nitrite est un produit intermédiaire dans les processus d'oxydation et de réduction tels que la nitrification et la dénitrification (Sigman and Fripiat, 2019). Les ions nitrites, (NO_2), comme les nitrates, sont présents à l'état naturel dans les sols, les eaux et les plantes, mais généralement en faible quantité (Ben aakame et *al.*, 2019).

L'acide sulfanilique, en milieu chlorhydrique en présence d'ion ammonium et de phénol, forme avec les ions NO2 - un complexe coloré jaune dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en Nitrite. La lecture au spectrophotomètre est effectuée à 435 nm (Bouklouze et al., 2009; Rodier et *al*., 2009).

IV.1.6 Les sulfates

Le sulfate naturellement présent dans l'eau, mais à des concentrations très variables. Le rejet de déchets industriels et d'eaux usées domestiques tend à augmenter sa concentration (Laafou et al., 2014).

Les sulfates sont précipités en présence d'acide chlorhydrique et de sulfate de baryum. le précipité ainsi obtenu est stabilisé à l'aide d'une solution de Tween 20, puis mesuré avec un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 650 nm (Rodier et *al*., 2009).

IV.1.7 Les orthophosphates

Le principe est la formation de phosphomolybdique par molybdate d'ammonium, et la réduction complexe par l'acide ascorbique en composé coloré en bleu, qui peut être déterminé par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 885 nm (Rodier et *al*., 2009; Zhang, 2016).

IV.1.8 Les Matières En Suspension (MES)

Les matières en suspension représentent l'ensemble des particules minérales et organiques contenues dans l'échantillon. Le principe de ce dosage repose sur la centrifugation d'un volume de 20 ml de l'échantillon à 6000 tr pendant 15 minutes. Le culot est mis dans une creuset en porcelaine préalablement pesée, puis séchée à l'étuve à 105°C pendant 24 heures. La différence entre le poids de l'échantillon sec et celui de du creuset vide détermine le taux de MES (Aissam, 2003; Rodier et *al*., 2009) .

IV.1.9 La température

Elle a été mesurée par un thermomètre à sonde, Pt100, de type WIKA, Allemagne. Elle est exprimée en °C.

IV.1.10 Le pH

Le pH est une mesure de la concentration en ions hydrogène dans une solution et est également appelé degré d'acidité ou d'alcalinité (Trick et al., 2018). Il a été mesuré par d'un pH-mètre à batterie de marque Hanna Instruments HI 9126 Digital.

IV.1.11 La conductivité électrique

La mesure de la conductivité électrique est une bonne indication du degré de présence de sels minéraux dans le lixiviat (CEAEQ, 2015), Elle a été mesurée à l'aide d'un conductimètre de type HANNA INSTRUMENT.

IV.1.12 La Coloration

La coloration des lixiviats est évaluée par la mesure de la DO à 455 nm (Abdul Aziz et al., 2007).

La décoloration est évaluée selon la formule suivante :

$$\textbf{Décoloration (\%)} = ((DOi - DOf) / DOi) \times 100$$

Où DOi et DOf sont respectivement la densité optique initiale et la densité optique finale de la couleur des lixiviats.

IV.1.13 L'azote total kjeldhal (NTK)

L'azote total Kjeldahl (NTK) est une appellation qui désigne la somme de l'azote ammoniacal et l'azote organique. Cette méthode consiste à minéraliser l'échantillon de lixiviat avec de l'acide sulfurique concentré et à l'alcaliniser avec du NaOH. L'ammonium est libéré par distillation et récupéré avec de l'acide borique. Ensuite, le titrage avec l'HCL permet le calcul de la concentration initial de l'ammonium dans l'échantillon.

Mode opératoire :

1 ère étape : Digestion

- Mette dans le matrat de digestion 25 ml d'échantillon.

-Ajouter au tube contenant l'échantillon : 8g du catalyseur kjeldahl, 15 ml d'acide sulfurique, quelques grains de pierre ponce.

- Placez les tubes de digestion contenant l'échantillon dans le bloc de digestion et placez aussi le collecteur de fumée.

-Faites la digestion à une température compris entre 350 C° et 400 C° et dans une période de temps qui varie entre 1h et 2h.

- A la fin de ce processus, le liquide obtenu est de couleur verte ou bleue transparente en fonction du catalyseur utilisé.

- Laissez refroidir l'échantillon à température ambiante.

2 éme étape : Distillation

- Introduisez dans un erlenmeyer : 50 ml d'acide borique et quelques gouttes d'indicateur mixte. Placez l'erlenmeyer sous réfrigérant. Laisser le tube de sortie immergé dans l'acide borique.

- Une fois que le tube d'échantillon et l'erlenmeyer sont placés avec l'acide borique, on dose environ 50 ml de NaOH et on commence la distillation.

- La distillation doit être prolongée assez de temps pour distiller un minimum de 150 ml, approximativement entre 5 et 10 minutes.

IV.1.14 Analyse par HPLC-UV

Une analyse par chromatographie haute performance a été réalisée pour analyser la présence de détergents dans le lixiviat brut. L'échantillon a été filtré avec des filtres de 0,45 µm avant d'être analysé par HPLC (UV-vis). La séparation des composés a été réalisée sur un Wakosil C18HG (5 µm, 4,6 × 150 mm) à une température de 40 °C. L'élution a été réalisée en mode gradient en utilisant un mélange de solvants binaires composé d'eau acidifiée avec 0,2% d'acide phosphorique (solvant A) et de méthanol/acétonitrile 50/50 (solvant B). Un gradient linéaire a été exécuté de 96% (A) et 4% (B) à 50% (A) et 50% (B) pendant 40 min ; il a été changé à 40% (A) et 60% (B) pendant 5 min et pendant 15 min, il a été changé à 0% (A) et 100% (B), après rééquilibrage pendant 12 min à la composition initiale. Le débit de la phase mobile était de 1 ml/min, et le volume d'injection de l'échantillon était de 20 µl. Tous les composés de notre échantillon ont été identifiés en comparant leurs temps de rétention avec le détergent de référence (Triton) analysé (Amakdouf et *al*., 2021).

IV.2 Analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques des échantillons des lixiviats ont été réalisées juste après prélèvement ou après traitement, pour éviter toute possibilité de modification de la concentration microbienne. Ces analyses sont effectuées une fois par 15 jours. La préparation des séries des dilutions d'effluent de l'entrée, sortie du pilote est la première étape suivie par l'étalement en surface d'un volume de 100 µl sur le milieu gélosé convenable. Les analyses ont été effectuées en se basant sur la méthode décrite par Rodier (Rodier et *al*., 2009).

IV.2.1 Coliformes totaux et fécaux

Ils sont des germes provenant du tube digestif des humains ou des animaux à sang chaud, qui sont considérés également comme des indicateurs de la qualité hygiénique du produit à analyser (Abed et *al*., 2014). Les coliformes sont cultivés sur gélose désoxycolate citrate (DCL) incubé pendant 48 heures, à 37°C pour les coliformes totaux et à 44°C pour les coliformes fécaux.

IV.2.2 Germes totaux

Les germes totaux sont cultivés sur la gélose nutritive (GN). Par la suite, l'incubation des boites de Pétri est à 37 °C pendant 24 heures.

IV.2.3 Streptocoques fécaux

Les milieux utilisés sont Slanetz et Bartely. Les boîtes de Pétri sont incubées à 37°C durant 24 à 48 heures.

IV.2.4 Staphylocoques

C'est le milieu de Chapman qui est utilisé pour l'isolement des staphylocoques. L'incubation des boites de Pétri est à 37°C pendant 24 à 48 h.

IV.2.5 Levures

Le milieu de culture utilisé est YPG, auquel est ajouté l'ampicilline (50 µg/ml) ou le chloramphénicol (25 µg/ml) en tant qu'antibiotiques pour inhiber toute croissance bactérienne. L'incubation est à 30°C pendant 48 à 72 heures (Aissam, 2003).

IV.3 Analyses métalliques

Nous avons analysé les éléments métalliques Aluminium (Al), Cadmium (Cd), Chrome (Cr), Cuivre (Cu), Fer (Fe), Manganèse (Mn), Nickel (Ni), Plomb (Pb) et Zinc (Zn) dans nos échantillons à la cité d'innovation de Fès, par la spectrométrie à plasma à couplage inductif (ICP) à l'aide d'une spectroscopie de type Horiba Jobin Yvon.

Chapitre II : La Bio-augmentation

Introduction

L'objectif du traitement par des procédés biologiques repose sur l'utilisation des micro-organismes pour traiter les effluents. Ces méthodes sont basées sur l'utilisation de populations microbiennes capables de transformer les polluants en composés moins toxiques pour l'environnement et moins dangereux pour la santé humaine (Herrero and Stuckey, 2015). La bio-augmentation consiste à introduire des micro-organismes ayant des capacités cataboliques spécifiques dans des environnements contaminés, afin d'accélérer la dégradation des polluants ciblés (Shao et *al*., 2014). Ainsi, les meilleurs résultats de la bio-augmentation ont été obtenus en utilisant des microorganismes isolés du même environnement, en raison de la grande adaptation de ces microorganismes à l'environnement, contrairement à ceux nouvellement introduits (Jia et *al*., 2019). Cette étude vise à utiliser des souches bactériennes pour traiter l'effluent de lixiviat par bio-augmentation. L'efficacité du traitement est évaluée en mesurant (i) la demande chimique en oxygène (DCO) et (ii) le taux d'élimination des métaux lourds (Cr, Fe, Zn et Ni).

I. Site d'étude et échantillonnage

Les échantillons de lixiviat ont été collectés de la décharge contrôlée de la ville de Fès. Les échantillons ont été collectés et transportés au laboratoire selon les normes en vigueur.

II. Isolement et caractérisation des souches bactériennes de l'effluent de lixiviation

Les bactéries ont été isolées à partir des lixiviats la décharge contrôlée de la ville de Fès, en utilisant deux milieux de culture : lysogeny broth (LB) (peptone 10 g/l ; extrait de levure 5 g/l ; chlorure de sodium 10 g/l) (El Karkouri et al., 2010; Macwilliams and Liao, 2019) et Nutrient Agar (NA) (Peptone 5.0 g, extrait de bœuf 3.0 g , Agar 15.0 g) (Federation, 1999). Les isolats bactériens ont été purifiés par repiquages successifes et l'incubation est réalisée à 30°C pendant 48 heures. Après 48h d'incubation, les colonies bactériennes ont été dénombrées. Nous avons dénombré les boites de pétri où le nombre de colonies est compris entre 30 et 300 colonies.

$$\text{Nombre de germe (UFC)} = \frac{\text{Nombre de colonies obtenues x Facteur de la dilution}}{\text{Volume de l'échantillon étalé (ml)}}$$

Les isolats ont été caractérisés en utilisant des caractéristiques macroscopiques, microscopiques et phénotypiques selon les méthodes standard décrites dans le Manuel de bactériologie systématique de Bergey (De Vos et *al*., 2009).

L'étude macroscopique est une méthode qui peut être examiné à l'œil nue des cultures pures obtenues. Elle est basée sur la détermination de l'ensemble des critères morphologiques tels que : Forme, taille, couleur, opacité, surface et contour.

Tableau 5: les éléments d'identifications macroscopiques des colonies bactériennes

Forme	Taille	Couleur	Elévation	Opacité	Surface
-Ronde -Irrégulière	-punctiforme -Non punctiforme	-Blanche -Jaune…	-Convexe -Concave -Plate	-Opaque -Translucide -Transparent	-Lisse -Rugueuse...

L'étude microscopique nous a permis de distinguer et de classer les bactéries selon les propriétés de leur paroi, bactéries à Gram positif ou Gram négatif par coloration de Gram :

Une coloration violette désigne que la bactérie est Gram positif, alors que la coloration rose indique que la bactérie est Gram négatif.

III. Identification moléculaire

Huit isolats sont sélectionnés pour l'identification moléculaire via l'amplification par PCR du gène de l'ARNr 16 S et séquençage.

III.1 Extraction rapide de l'ADN par choc thermique

Pour chaque isolat bactérien, 1 ml d'une préculture est centrifugé à 7000 g pendant 5 min. Le culot est suspendu dans 100 µl de l'eau distillée stérile et la suspension et sujette à un choc thermique (3 min à -20 °C suivies de 3 min à 95 °C). Après centrifugation à 16 000 *g* pendant 5 min, 2 µl de surnageant contenant l'ADN est utilisé pour la réaction de l'amplification en chaine (PCR).

III.2 Réaction d'amplification en chaine

Les amorces universelles, fD1 (5′-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3′) et rP2 (5′-TACGGCTACCTTGTTACGACTT-3′) sont utilisées pour amplifier le gène de l'ARNr 16 S (Weisburg et al., 1991). La réaction d'amplification est réalisée à un volume final de 20 µl contenant 0.5 μM de chaque amorce, 200 μM de chaque dNTP, 0.2 unités de la Taq polymérase, 1.5 *mM* de $MgCl_2$ et 2 µl de l'échantillon de l'ADN dans 1x du tampon de Taq polymerase. L'amplification est réalisée dans un thermocycleur (Techne Genius, Cambridge, UK) où le mélange est d'abord dénaturé à 94 °C pendant 5 min. Puis, 35 cycles de PCR sont faits par

dénaturation à 94 °C pendant 30 s, hybridation à 55 °C pendant 30 s et élongation à 72 °C pendant 1 min 30 s.

III.3 Séquençage des produits PCR

Le séquençage est réalisé au Centre National de Recherche Scientifique et Technique (CNRST), Rabat-Maroc. Les séquences partielles du gène de l'ARNr 16S sont comparées à celles disponible dans la base de données GenBank tout en utilisant le logiciel BLAST (NCBI: National Center for Biotechnology Information).

IV. Traitement des lixiviats, à l'échelle de laboratoire, par les souches bactériennes

Les essais de traitement des lixiviats par bio-augmentation sont réalisés dans des erlenmeyers de 250 ml contenant 100 ml de lixiviats dilués au 1/4 par de l'eau distillée.
Premièrement les lixiviats sont stérilisés par autoclavage à 121 °C pendant 20 min, afin d'éliminer toute forme microbienne indigène présente naturellement dans le lixiviat, et pour éviter une compétition avec d'autres microorganismes.

Par la suite, nous avons inoculé les lixiviats par les cellules bactériennes à différentes concentrations (2%, 4%, et 6%,) afin de déterminer la concentration qui donne le meilleur taux d'abattement de la DCO.

Les mélanges sont incubés à 30°C sous agitation à 150 rpm. Des témoins dépourvus de cellules bactériennes sont préparés et incubés dans les mêmes conditions. Des prélèvements sont réalisés chaque 2 h pour la détermination de la DCO, qui représente le paramètre le plus élevé dans les lixiviats.

V. Analyses statistiques

Des tests ANOVA unidirectionnels et ANOVA bidirectionnels sont réalisés pour déterminer les effets significatifs des souches isolées et de leurs concentrations bactériennes dans l'élimination de la DCO. De plus, un test t est également réalisé pour vérifier les différences entre les souches bactériennes et leurs concentrations. Tous les tests sont effectués dans le logiciel Graphpad Prism5.

VI. Traitement des lixiviats, à l'échelle pilote, par les souches bactériennes

Après l'isolement des souches à partir des lixiviats, nous avons testé ces dernières. Les analyses au niveau du laboratoire ont montré un taux d'abattement allant jusqu'à 74,29%.
Nous avons appliqué cette procédure à l'échelle pilote, pour cela nous avons suivi le protocole suivant :

- L'ensemencement se fait à partir d'une culture solide.
- Les souches cultivées dans des tubes contenant 5 ml de bouillon nutritif. Par la suite ils sont incubés à une température ambiante avec une agitation pendant 24-48h.
- Dans un erlenmeyer de 250 ml, nous avons ajouté 100 ml de bouillon nutritif et 2 ml de notre culture pour chaque souche.
- Incubation et agitation pendant 48h.
- Préparation d'un erlenmeyer de 2 litres pour chaque souche qui contient 1000 ml de bouillon nutritive, dans lequel est ensemencé 20 ml de notre culture.
- Incubation et agitation pendant 3 jours.

Par la suite, nous avons injecté les 8 litres de la culture bactérienne isolée dans le réacteur séquentiel discontinu à l'échelle pilote, chaque litre contenant 1 souche, avec 8 souches au total. C'est la première fois que ce travail a été effectué à l'échelle national.

Chapitre III: La métagénomique

I. La prise de l'échantillon

Les boues ont été collectées de notre réacteur RSD, les échantillons ont été prélevés et transportés au laboratoire dans la glace et dans des conditions aseptiques. Le choix de notre échantillon s'est basé sur les résultats physico-chimiques obtenus lors du traitement des lixiviats dans notre réacteur. Nous avons choisi les résultats les plus performants, c'est ce qui montre que nous avons une grande diversité biologique.

Notre objectif de ce travail est de déterminer la composition de la communauté microbienne de notre échantillon. Nous avons réalisé une caractérisation par sequençage de l'ADNr16S pour les *bactéries*, 18S pour les *eucaryotes* et les ITS pour les *champignons.*

Le séquençage de notre microbiote a été effectué au sein du centre Novogene Europe (Royaume-Uni) en Angleterre, Novogene est parmi les plus grandes plateformes du séquençage NGS (séquençage nouvelle génération) au monde, possédant les dernières technologies de pointe (Illumina, PacBio, Oxford Nanopore ...). Novogene a fait ses preuves en matière de performance et de fiabilité et dispose de la capacité NGS la plus avancée au monde.

II. Préparation du séquençage

II.1 Extraction d'ADN génomique

L'ADN du génome total des échantillons a été extrait en utilisant la méthode CTAB / SDS. La concentration et la pureté de l'ADN ont été contrôlées sur des gels d'agarose à 1%. Selon la concentration, l'ADN a été dilué à 1 ng / µL en utilisant de l'eau stérile.

II.2 Génération d'amplicon

Les gènes 16S ARNr ; 18S ARNr ; ITS de régions distinctes ont été amplifiés à l'aide des amorces spécifiques. Toutes les réactions PCR ont été réalisées avec Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix (New England Biolabs) (New England Biolabs) (tableau 6).

Tableau 6: Amorces utilisées pour la réalisation des banques

Types	Region	Fragment Length	Primer	Primer séquences（5'- 3'）
16S *Bacterial*	**V3-V4**	466bp	**341F**	CCTAYGGGRBGCASCAG
			806R	GGACTACNNGGGTATCTAAT
18S *Eukaryotic*	**V4**	**350bp**	**528F**	**GCGGTAATTCCAGCTCCAA**
			706R	**AATCCRAGAATTTCACCTCT**
ITS *les champignons*	**Region ITS2**	**386bp**	**ITS3**	**GCATCGATGAAGAACGCAGC**
			ITS4	**TCCTCCGCTTATTGATATGC**
16S Archaea	**V4-V5**	**400-500bp**	**Arch5 19F**	**CAGCCGCCGCGGTAA**
			Arch9 15R	**GTGCTCCCCCGCCAATTCCT**

II.3 Quantification et qualification

Mélanger le même volume du tampon de charge 1X (contenant du vert SYB) avec les produits PCR et opérer une électrophorèse sur gel d'agarose à 2% pour la détection. Les échantillons présentant une bande principale brillante entre 400bp-450bp ont été choisis pour les expériences suivantes.

II.4 Mélange et purification des produits PCR

Les produits PCR ont été mélangés à des rapports de densité égaux. Les produits PCR mélangés ont été purifiés avec le kit d'extraction sur gel de Qiagen (Qiagen, Allemagne).

Les bibliothèques générées avec NEB Next® UltraTM DNA Library Prep Kit for Illumina et quantifiées par Qubit et Q-PCR, seront analysées par la plateforme Illumina.

III. Analyse bio-informatique

III.1 Assemblage et correction des séquences

Les lectures en paires ont été attribuées aux échantillons sur la base de leur code-barres unique et tronquées en coupant le code-barres et les séquences d'amorce. Les lectures en paires ont été fusionnées à l'aide de FLASH. Un filtrage de qualité sur les étiquettes brutes a été effectué dans des conditions de filtrage spécifiques pour obtenir des étiquettes propres de haute qualité.

III.2 Recherche et élimination des séquences chimériques

Toutes les séquences ne peuvent pas être analysées. Nous avons obtenu toutes les séquences des gènes de l'ADN 16S/18S/ITS de différentes banques via le programme Silva. La recherche de séquences chimériques est réalisée par le programme **uchime** mis en œuvre dans Mothur. Par conséquent, la séquence indiquée par uchime est exclue de l'analyse par la commande "remove.seqs". Ce processus de filtrage est toujours une étape précoce essentielle dans toute analyse du microbiome.

III.3 Répartition des séquences en OTUs

Les séquences ont été alignées par la commande ‘align.seqs’ implémenter dans MOTHUR. Les matrices de distances ont été calculées à l’aide de l’outil **dist.seqs** par MOTHUR. Les OTUs ont été formées en utilisant l’algorithme du ‘cluster’ avec le logiciel MOTHUR ont utilisant un seuil 0,03 ou 3% de dissimilarité pour définir un OTU.

III.4 Analyse de la raréfaction

Les courbes de raréfaction sont largement utilisées pour indiquer la biodiversité des échantillons. La courbe de raréfaction est créée en sélectionnant au hasard une certaine quantité de données de séquençage à partir des échantillons, puis en comptant le nombre d'espèces qu'ils représentent (c'est-à-dire le nombre d'OTU) en utilisant le programme MOTHUR. Les courbes de raréfaction peuvent refléter la richesse de la communauté microbienne dans les échantillons. Si la courbe est raide, beaucoup d'espèces restent à découvrir. Si la courbe devient plus plate, ce qui signifie que seules les espèces rares restent à échantillonner (Ratio and Antipolis, 2011).

Partie III : Résultats et discussions

Chapitre I: Traitement biologique des lixiviats de la décharge contrôlée de la ville de Fès avec le réacteur séquentiel discontinu

Introduction

la forte charge polluante et les dangers résultant du lixiviat, ont donné lieu à de nombreuses recherches et études approfondies sur différents aspects de ces lixiviats, avec un accent particulier sur leur génération, leur composition, leur caractérisation et leur traitement (Wijekoon et *al*., 2022). Les procédés biologiques et physico-chimiques sont les méthodes les plus appropriées pour le traitement de ces effluents (Wu et *al*., 2021) mais, le traitement biologique des lixiviats de décharge est plus utilisé en raison de son faible coût économique et de son impact environnemental (Teng et *al*., 2021).

Notre objectif principal dans ce chapitre est le traitement des lixiviats de la décharge contrôlée de la ville de Fès par le procédé biologique en utilisant un réacteur séquentiel discontinu à l'échelle pilote.

I. Caractérisation physico-chimique et microbiologique des lixiviats de la décharge contrôlée de la ville de Fès

I.1 Caractérisation physico-chimique

Afin de caractériser les lixiviats de la décharge publique contrôlée de Fès, et voir s'ils répondent à la norme Marocaine de rejet, nous avons effectué des analyses physico-chimiques. Les échantillons de lixiviats à l'état jeune ont été prélevés à la sortie du site d'enfouissement technique, le tableau 7 illustre les résultats de ces analyses.

Tableau 7: Caractérisation physico-chimique des lixiviats de la décharge contrôlée de la ville de Fès.

	Valeurs maximales	**Valeurs minimales**	**Valeurs moyennes**	**Valeurs limites générales pour les rejets dans les eaux de surface et souterraines**
pH	8.85	8.41	8.63	5.5-9.5
Température °C	12.8	11.2	12	-
Conductivité électrique (ms/cm)	45.8	44.8	45.3	2,7
MES (mg/l)	3550	1024	2287	100
DCO (mg d'O2/l)	17575.75	6606.06	12090,90	500
DBO_5 (mg d'O_2/l)	10500	1000	5750	100
NH_4^+ (mg/l)	235	13.64	124,32	-
NO_3^- (mg/l)	6.57	4.80	5.68	-
NO_2^- (mg/l)	8.80	8.28	8.54	-
PO_4^{3-} (mg/l)	3.87	1.31	2,59	2

SO_4^{2-} (mg/l)	412.91	217.08	315	600
NTK g/l	2,6	1,63	2,11	-

Le tableau 7 montre que les valeurs du pH des échantillons de lixiviats provenant du bassin de stockage variaient entre 8,41 et 8,85, avec une valeur moyenne de 8,63. Ceci montre que les lixiviats se caractérisent par un pH alcalin. La nature alcaline du lixiviat est un indicateur du stade de maturité du site de décharge (Emenike et *al*., 2012). Nous avons aussi une forte concentration de la conductivité électrique qui dépasse énormément les normes Marocaines en vigueur. La conductivité élevée des lixiviats reflète également les teneurs élevées en sels solubles et qui pourrait être dû aux sels minéraux présents dans les déchets. Il y a également une concentration importante en MES qui ne répond pas à la norme de rejet Marocaine.

La concentration de l'ammonium est en moyenne de 124,32 mg/l, qui constitue un bon indicateur de la pollution azotée générée par les déchets urbains. La valeur minimale de l'ammonium trouvée était de 13,63 mg/l, traduisant ainsi l'effet de la precipitaion et d'une faible pollution par les ions d'ammonium, avec une valeur maximale de 235,76 mg/l de NH_4, expliquée par un apport important des déchets à la décharge en saison estivale allant jusqu'à 1200 t/jour. Les ions PO_4^{3-} sont normalement présents dans les lixiviats des déchets frais. La présence du phosphore dans le lixiviat provient de certaines catégories de déchets comme les os, les incombustibles non classés, les déchets putrescibles et les détergents.

Les valeurs de DCO obtenues au cours de cette étude ont atteint jusqu'à 17575.75 mg/l, avec une moyenne de 12090,90 mg/l. Cette forte charge organique des lixiviats est due en grande partie aux déchets putrescibles et papiers-cartons (matière organique non synthétique) et par les plastiques (matière organique synthétique).

Les valeurs de DBO5 des lixiviats analysés ont atteint 10500 mg/l avec une moyenne de 5750 mg/l. Ces fluctuations de la DBO_5 s'expliquent par l'instauration des conditions de dégradation de la matière organique par les microorganismes. Cette activité consommatrice d'oxygène, est à l'origine de l'autoépuration des eaux. Cependant, en période humide les eaux de pluie contribuent à la dilution de la charge organique émanant des déchets et par conséquent à une diminution des valeurs de la DBO_5. Le rapport DBO_5/DCO peut être considéré comme une mesure de la biodégradabilité de la matière organique, et donc de la maturité du lixiviat et de la décharge, qui diminue généralement avec le temps (El-Fadel et *al*., 2003).

Le rapport DBO_5/DCO de notre lixiviat est en moyen 0,47, ce qui permet de les classer parmi des lixiviats facilement biodégradables.

D'après la caractérisation physico-chimique, de l'effluent de lixiviats de la décharge publique contrôlées de Fès, nous constatons que cet effluent ne répond pas aux normes de rejet de point de vue DCO, DBO_5, conductivité électrique, formes azotées, MES et l'orthophosphate qui ont des concentrations très élevées. D'où vient la nécessité du traitement avant le rejet dans les milieux naturels pour éviter tous les risques sanitaires et environnementaux.

Tableau 8: Caractérisation physico-chimique des lixiviats d'autres auteures.

pH	DCO (mg/l)	DBO_5 (mg/l)	MES (mg/l)	NH_4 (mg/l)	Références
8,36– 6,84	11521-89475	600- 20000	1000- 5500	0,38- 48	(EL Fadel, 2013)
8,10	6166	4209	1064	2266	(Tigini et *al*., 2014)
8,92-8,14	2030-1580	336-72	1372-374	1145-2150	(Hamidi et *al*., 2015)
8,29-5,53	80000-1000	2000-1996	10000-30	2740-116	(Youcai, 2018a)
9,56	6932	1242	750	72,14	(Paruti and Santhaveeranagoud, 2019)
8,2-7,7	17400-880	4019-30	ND	3971-599	(He et *al*., 2019)
8,55-5,4	9335-13	5275-15,5	ND	2865-4	(Bakhshoodeh et *al*., 2020)
8,2	5216	2948	ND	1997	(Rani et *al.*, 2020)
7,78	2854	218	ND	1940	(Pierpaoli et *al*., 2021)

Selon la littérature (tableau 8), nous remarquons que le pH varie entre 7,78 - 9,56. Lorsque le lixiviat est caractérisé par un pH élevé cela signifie que le lixiviat est stable. En ce qui concerne

la DCO et en comparant nos résultats avec la littérature, la concentration varie entre 2854 - 80000 mg/l. Ce paramètre est considéré comme un indicateur de degré de la pollution de l'eau, des eaux usées et des déchets aqueux dangereux (Hu and Grasso, 2004). Alors que, la concentration de la DBO_5 varie entre 218 - 5216 mg/l. Ces deux paramètres reflètent les concentrations de matière organique soluble qui varient en fonction des caractéristiques des déchets mis en décharge, de l'âge de la décharge ou des conditions climatiques (Koda et *al*., 2017).

Le rapport DBO_5/DCO pour certaines études est inférieur à 0,2, ce qui signifie que le lixiviat n'est pas facilement biodégradable, mais pour certaines études, un rapport de DBO_5/DCO supérieur à 0,6, montre que le traitement biologique est faisable pour le lixiviat (Yang and Zhou, 2008; Godfred, 2017; Jagaba et *al*., 2021).

En ce qui concerne l'ammonium, la valeur varie entre 72 et 3971 mg/l. D'après Zhao Youcai, la forte concentration de l'ammonium est caractéristique d'une décharge au stade stable (Youcai, 2018a)**.**

I.2 Caractérisation métallique des lixiviats

Nous avons analysé les éléments métalliques Fer (Fe), chrome (Cr), nickel (Ni), plomb (Pb), Cadmium (Cd), cuivre (Cu), cobalt (Co) dans les lixiviats bruts. Cette analyse a été effectuée à la cité d'innovation de la ville de Fès. Les résultats de cette analyse sont reportés dans le tableau 9.

Tableau 9: Résultats d'analyse des métaux lourds dans les lixiviats

	Lixiviat brut	**Valeurs limites générales de rejet dans les eaux superficielles et souterraines**
Cd (mg/l)	<0,01	0,25
Cr (mg/l)	4,23	2
Fe (mg/l)	38,23	5
Pb (mg/l)	<0,01	1
Cu(mg/l)	<0,01	2
Ni(mg/l)	2,71	5
Co(mg/l)	<0,01	0,5
Mn(mg/l)	3,55	2

*<0,001: La valeur limite obtenue par l'ICP est 0,001. Les valeurs inferieures à cette limite ne peuvent pas être détectées.

La pollution par les métaux lourds est devenue un problème majeur mettant en danger la santé humaine et l'environnement, car ils ne sont pas biodégradables et auront un impact sur les êtres vivants s'ils dépassent une certaine concentration (Vaverková et *al*., 2018), dans un système vivant. Ils sont capables de perturber les fonctions normales d'une cellule en raison de leur capacité à former des liaisons métalliques fortes, avec un certain nombre de macromolécules fonctionnelles. Des concentrations infimes du chrome peuvent provoquer des nausées et des vomissements et sont également toxiques pour les cultures. Le plomb provoque une anémie, des lésions cérébrales, une anorexie, une déficience mentale, des vomissements, et même la mort chez les êtres humains (Naveen et *al*., 2017). Il perturbe l'équilibre biologique naturel et inhibe les processus d'auto-épuration dans les systèmes naturels (Hussein et *al*., 2021).

Les résultats du tableau 10 montrent que les lixiviats ne répondent pas aux normes de rejet Marocaine en termes des métaux lourds, à part le Cd, le Cu, le Pb, le Co qui ont une concentration inférieure à celle de la norme Marocaines.

Tableau 10: Résultat d'analyses des métaux lourds dans les lixiviats d'autres auteures

Cd	**Cr**	**Fe**	**Mn**	**Pb**	**Ni**	**Zn**	**Références**
0,006	0,08	ND	ND	0,07	0,130	0,67	(Kjeldsen et *al*., 2010)
Non détecté	0,19-0,02	ND	4,25-0,42	0,03-0,01	ND	0,06-0,04	(Agamuthu and Fauziah, 2010)
0,028	4,554	14,65	2,002	0,215	0,841	1,663	(EL Fadel, 2013)
0,20- 0,02	0,36 - 0,02	25,3-1,75	ND	ND	4,46-0,23	ND	(Hoque et *al*., 2014)
0,03	0,65	7,3	0,04	0,03	0,32	3,27	(Ishak et *al*., 2016)
1,083-0,065	1,918-1,900	25,6-2,8	ND	1,309-1,07	ND	6,09-3,88	(Boateng et *al*., 2019)

Selon la littérature, les concentrations des métaux lourds dans les lixiviats de décharges sont faibles pour certains paramètres tels que le cadmium, le plomb et le chrome, ce qui pourrait être lié au pH élevé des lixiviats conduisant à l'immobilisation des métaux en réduisant leur solubilité (Wdowczyk et *al*., 2022).

II. Caractérisation microbiologique des lixiviats

Le tableau 11 montre les résultats des analyses microbiologiques des lixiviats de la décharge contrôlée de Fès.

Tableau 11: Résultats des analyses microbiologiques des lixiviats de la décharge contrôlée de Fès.

Micro-organismes	Lixiviat brut
Germe totaux (UFC/ml)	$740\ 10^4$
Coliformes totaux (UFC/ml)	$23\ 10^4$
Coliformes fécaux (UFC/ml)	0
Streptocoques fécaux (UFC/ml)	$23\ 10^3$
Staphylocoques (UFC/ml)	$10\ 10^3$
Levures (UFC/ml)	$1{,}2\ 10^5$

Ces résultats montrent une absence totale de coliformes fécaux alors que la présence de coliformes totaux, qui sont considérés comme un indicateur de contamination, car leur présence indique qu'il y a une contamination par des micro-organismes pathogènes (Grisey et *al*., 2010). Une abondance des streptocoques fécaux a été détectée dans l'échantillon de lixiviat. En effet, les streptocoques fécaux sont de très bons indicateurs de la contamination fécale et sont plus résistants aux facteurs environnementaux que les coliformes (Mobaligh et *al*., 2021). Les staphylocoques d'origine humaine ou animale, sont des germes ubiquitaires qui peuvent vivre dans la nature et sur les muqueuses de l'homme. Certaines souches sont pathogènes pour l'homme et les animaux (Mansouri , N. et *al*., 2018).

III. Traitement biologique des lixiviats dans un réacteur séquentiel discontinu à l'échelle pilote

Le réacteur séquentiel discontinu (RSD) a été ensemencé avec des boues venant de la station d'épuration de la ville de Fès d'un volume de 6%, soit 2,4 m^3. Nous avons alimenté au départ la cuve avec un débit de lixiviats de l'ordre de 1,25 m^3/j, dans le but d'adapter la biomasse des boues avec les lixiviats qui sont trop chargées en matières organiques. Le type d'aération est en surface et à vitesse lente avec un axe vertical.

Durant le démarrage de notre système de traitement des lixiviats par le réacteur séquentiel discontinu, nous avons remarqué l'émission de la mousse (Photo 7). Pour cela, nous avons ajouté de la silicone comme agent anti-mousse pour éviter la perte des boues. Normalement, la présence de la mousse est due soit à l'existence de détergents, soit à la présence de bactéries filamenteuses en forte concentration (*Microthrix parvicella)* (Durban et *al*., 2013). En raison de l'absence totale de bactéries filamenteuses, les détergents ont été analysés par HPLC dans les lixiviats bruts. Le chromatogramme obtenu (Figure 8) montre la présence de détergents de l'ordre de 16,26 g/l en comparaison avec le chromatogramme d'un détergent de référence qui est le Triton analysé dans les mêmes conditions.



Photo 7 : Production de la mousse au niveau du RSD

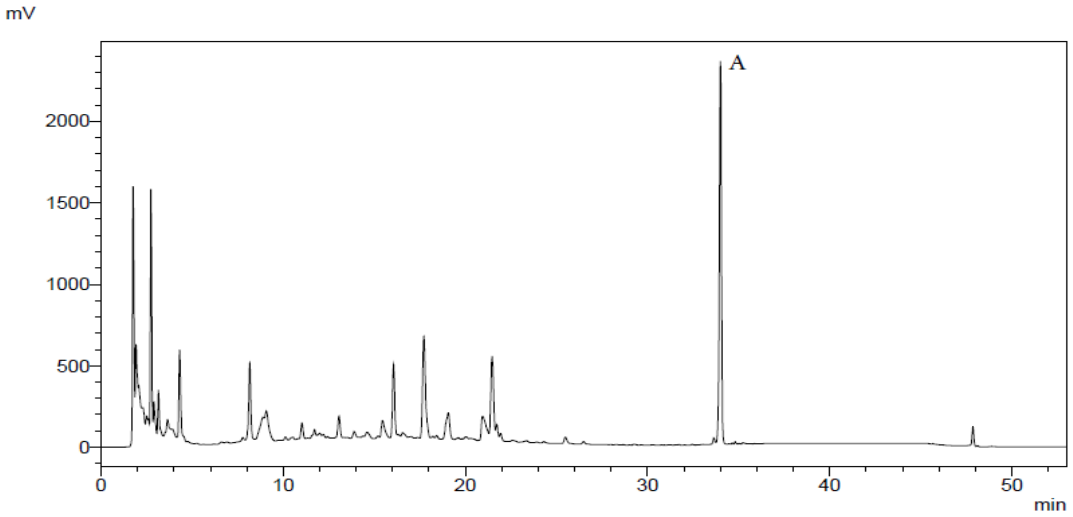


Figure 8: Chromatogramme du lixiviat avec pic de détergent à t = 35 min A = Triton.

III.1 Les boues activées

Au démarrage du pilote, les boues activées étaient caractérisées par une couleur noirâtre (Photo 9) et d'une matière en suspension de l'ordre de 16 g/l. Après aération des boues dans le RSD, elles ont changé de couleur et devenues marron à cause d'une bonne oxygénation de la cuve, dont la concentration en oxygène dissous était comprise entre 3 et 6,7 mg/l (Photo 10).



Photo 10: Boues activées après l'adaptation

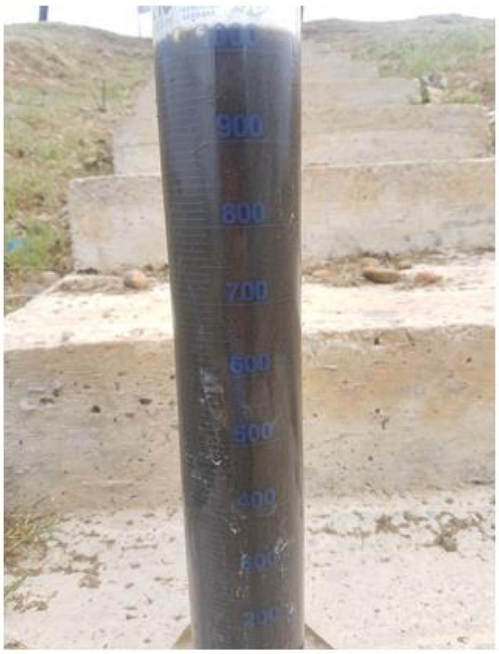


Photo 9: Boues activées du démarrage du RSD

Dès le démarrage du traitement, nous avons analysé tous les deux jours le pH, l'oxygène dissous, la conductivité électrique, les MES, le volume des boues décantées et l'indice des boues, afin de contrôler la boue durant la phase d'adaptation dans notre système d'aération (tableau 12).

Tableau 12: Résultats des analyses de quelques paramètres de contrôle des boues

Paramètres	Valeurs moyennes
Volume des boues décantées (ml)	325
MES (g/l)	12,37
pH	8,09
Oxygène dissous (mg/l)	5
Conductivité électrique (ms/cm)	18
Indice des boues (ml/g)	30

D'après les résultats du tableau 12, la biomasse s'est bien adaptée pendant presque deux mois de traitement, puisque la concentration des matières en suspension (MES) a augmenté. Pour l'indice des boues qui donne une idée sur la décantabilité des boues, la valeur moyenne est de 30 mg/l. Il est compris entre 3 et 57 ml/g, ce qui montre que les boues ont une bonne décantabilité. Ce résultat a été confirmé par une observation microscopique des boues et qui a montré presque une présence des bactéries filamenteuses qui jouent un rôle important dans la floculation des boues (photo 11).

Le développement des microorganismes est une condition nécessaire au bon fonctionnement d'une station d'épuration à boues activées. Bien que nécessaire, cette condition n'est cependant pas suffisante, les caractéristiques de la biomasse influent directement sur la structure des flocs, leur densité et sur l'aptitude des boues à la décantation. Selon la Photo 11, nous constatons la présence des divers micro-organismes, à savoir, les bactéries filamenteuses et les bactéries qui mettent en évidence la formation de bio-floc. Donc, nous pouvons constater que la biomasse s'est bien adaptée. Ces dernièrs, vont contribuer à la bonne séparation solide/liquide durant le traitement.

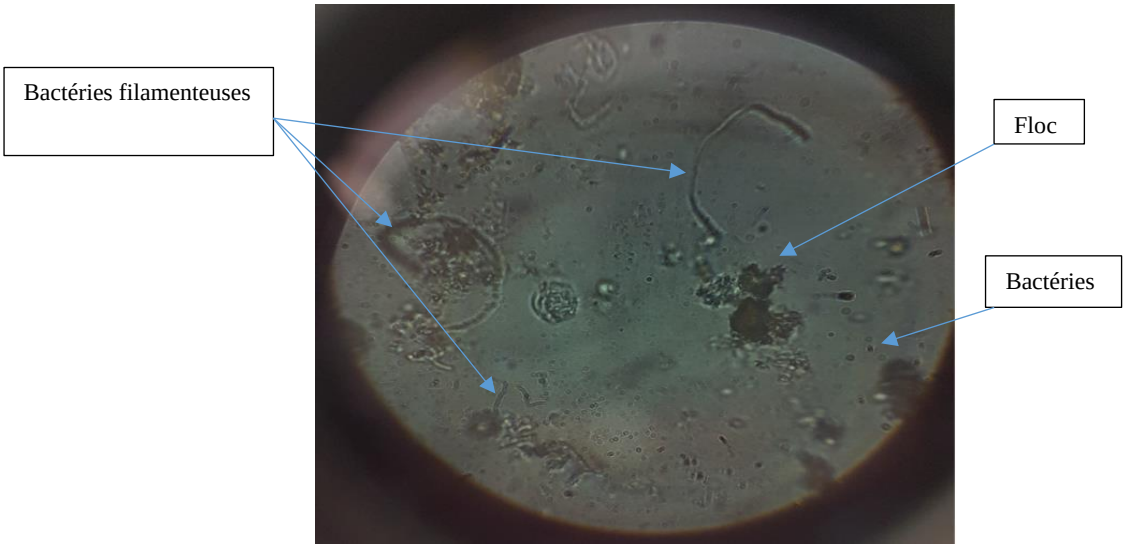


Photo 11: Observation microscopique de la boue activée après la période d'adaptation

III.2 Variation du pH, de l'oxygène dissous et de la température dans le réacteur séquentiel discontinu

Les principaux paramètres qui influencent les mécanismes d'élimination de l'azote et de la matière organique sont le pH, l'oxygène dissous (OD) et la température (Faouzi et al., 2008), puisque le traitement biologique est basé sur des organismes qui sont sensibles à ces paramètres. Le pH est également un paramètre très important qui affecte l'efficacité du traitement par RSD. Il affecte l'activité métabolique des substrats microbiens (Grunditz and Dalhammar, 2001), ainsi que la performance des boues activées. La figure 8 montre que le pH après le traitement par RSD varie entre 7,4 et 8,04.

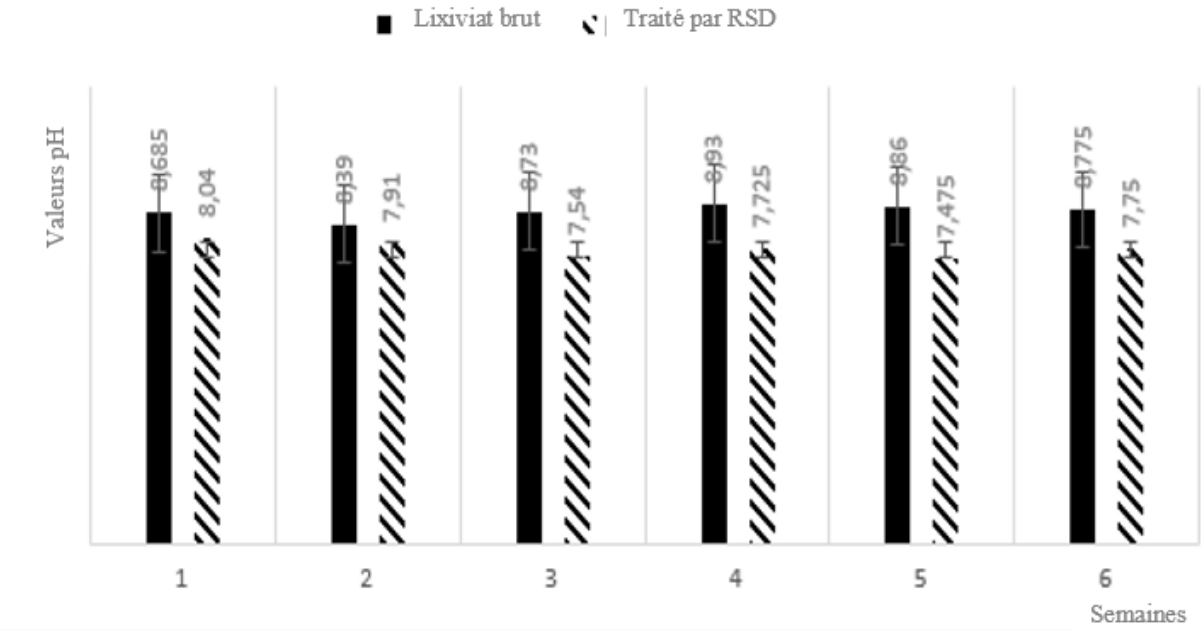


Figure 8: Variation du pH dans le réacteur séquentiel discontinu pendant 6 semaines.

La concentration d'oxygène dissous est considérée comme le paramètre de contrôle le plus important dans le processus d'abattement des paramètres chimique. Des niveaux excessifs d'oxygène dissous entraînent une consommation d'énergie inutile en raison d'une aération élevée et peuvent affecter les processus anoxiques. Dans le cas d'une faible concentration d'oxygène dissous, il y aura une inhibition de la croissance des bactéries nitrifiantes. Le processus de nitrification est la transformation biologique de l'ammoniac en nitrate qui dépend de la disponibilité de l'oxygène (Yong et al., 2006). Au cours du traitement en RSD, les concentrations d'oxygène dissous étaient comprises entre 2,6 et 3,8 mg O2/l (Figure 9).

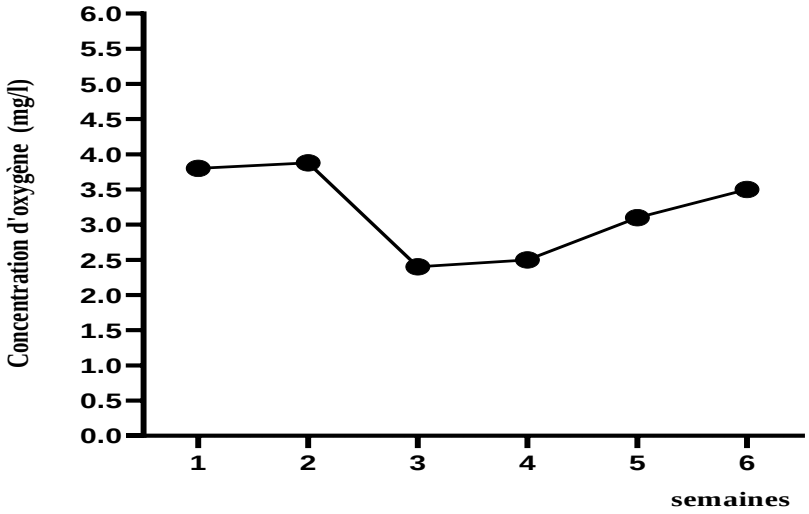


Figure 9 : Variation de l'oxygène dissous dans le réacteur séquentiel discontinu pendant 6 semaines.

La température détermine la vitesse et le rythme des réactions de dégradation biochimique. Plus la température est élevée, plus les réactions sont rapides (Grunditz and Dalhammar, 2001). La croissance bactérienne augmente lorsque la température augmente (Saeed and Sun, 2012). La température est une variable nécessaire qui influence la nitrification et le taux de croissance des microorganismes nitrifiants dans l'intervalle de température compris entre 5 et 30 °C. Dans cet intervalle, une augmentation de 10 °C favorise une augmentation du taux de nitrification d'un facteur de deux à trois (Jianlong and Ning, 2004) . D'après la figure 10, la température dans le RSD varie entre 29 °C et 35 °C au cours de 6 semaines de fonctionnement.

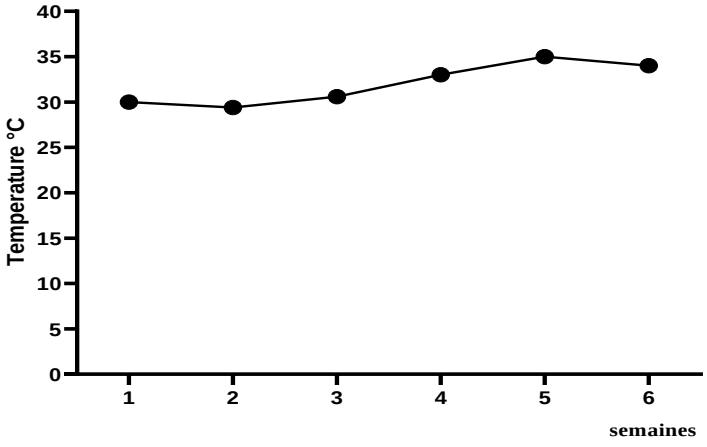


Figure 10: Variation de la température dans le réacteur séquentiel discontinu pendant 6 semaines.

IV. Résultats du traitement des lixiviats dans le pilote

Le tableau 13 montre les résultats des analyses physico-chimiques après le traitement par RSD, qui sont comparés au lixiviat brut pour déterminer le taux d'abattement. Les résultats sont présentés sous forme de valeurs moyennes du lixiviat brut et de la valeur moyenne après le traitement par RSD.

Tableau 13: Résultats de l'analyse des lixiviats après le traitement par RSD

	Valeurs moyennes des lixiviats bruts	**Valeurs moyennes des lixiviats traités avec le RSD**	**% d'abattement**	**Valeurs limites générales de rejet dans les eaux superficielles et souterraines**
pH	8,21	7,61	-	5,5-9,5
Conductivité électrique (ms/cm)	45	35,7	-	2,7
NH_4^+ (mg/l)	124,32	20	84	-
NO_3^- (mg/l)	5,68	208,05	-	-
NO_2^- (mg/l)	8,54	2,485	70	-
SO_4^{2-} (mg/l)	315	203,54	35	600
PO_4^{3-} (mg/l)	2,59	0,80	69	2
DCO (mg/l)	12090,90	1742,28	85	500
DBO_5 (mg/l)	5750	550	90	100
MES(g/l)	2,28	4,41	-	100 (mg/l)
NTK (g/l)	2,22	0,5	77	-

D'après l'analyse physico-chimique, les lixiviats de la décharge contrôlée de Fès ne répondent pas aux normes de rejet selon la DCO, la DBO5, la forme azotée, l'orthophosphate et les MES, qui sont caractérisées par des concentrations très élevées. Après le traitement des lixiviats par aération séquentielle dans le RSD, nous avons obtenu une diminution de la concentration de ces paramètres. En ce qui concerne la DCO, la concentration moyenne avant le traitement est de 12090,90 mg/l. À la sortie du RSD nous avons remarqué une diminution de la concentration avec un taux d'abattement de 86%. Pour la DBO_5, les lixivats bruts ont une concentration moyenne de 5750 mg/l et après le traitement, il y a une diminution jusqu'à 550 mg/l. Ces résultats peuvent être expliqués par la performance des boues utilisées dans le RSD, qui dégradent la matière organique biodégradable présente dans le lixiviat, ainsi que par la présence d'une biomasse épuratrice. Cela confirme que ces lixiviats sont biodégradables. Des études

similaires ont indiqué que si l'efficacité de l'élimination de la DCO par la RSD est faible, cela signifie que la biodégradabilité du lixiviat est faible (Aziz et *al*., 2011).

Nos résultats sont comparables à ceux d'autres auteurs, qui ont trouvé un abattement de 96% de la DCO et 98% de la DBO5 dans le RSD qui traite les eaux usées à Dubaï (Obaidi Ouidiane and Merzouki Mohammed, 2016) . Selon Hamid Yazdani et al., (2020) le RSD a fortement contribué à l'élimination de la DCO dans les eaux usées sanitaires.

Cependant, durant notre traitement nous avons remarqué que la concentration des nitrates a augmenté, les lixivats bruts se caractérisent par une concentration de 5,68 mg/l et après le traitement avec le RSD, cette concentration augmente à 208,05 mg/, ceci est dû à la nitrification. L'élimination biologique de l'azote peut être classée en deux étapes distinctes : la nitrification et la dénitrification. La nitrification implique la conversion de l'ammonium en nitrate dans des conditions aérobies, tandis que la dénitrification implique la conversion du nitrate en azote gazeux (N2) en utilisant des matières organiques, facilement biodégradables, dans des conditions anoxiques ou anaérobies. Les dénitrificateurs sont principalement des bactéries anaérobies facultatives qui peuvent survivre dans des conditions aérobies. Il a été rapporté que les genres de bactéries dénitrifiantes comme *Pseudomonas*, *Alcaligenes* et sont les plus importants dans les boues activées des eaux usées (Yong et *al*., 2018).

Les tableaux 14 et 15 présente les résultats des analyses microbiologiques et des métaux lourds du lixiviat avant et après traitement par RSD.

Tableau 14: Résultats des analyses microbiologiques des lixiviats bruts traités par RSD

	Lixiviat brut	**Lixiviat traité par RSD**	**Taux d'abattement**
Germes totaux (UFC/ml)	$75\ 10^5$	$11\ 10^2$	99
Coliformes totaux (UFC/ml)	$51\ 10^4$	$35\ 10^4$	31
Coliformes fécaux (UFC/ml)	0	0	0
Streptocoques fécaux (UFC/ml)	$58\ 10^3$	$3\ 10^3$	94
Staphylocoque (UFC/ml)	$82\ 10^4$	$67\ 10^3$	91
Levures(UFC/ml)	$18\ 10^4$	$1\ 10^4$	94

Tableau 15 : Résultats des métaux lourds de l'effluent du lixiviat traité par le RSD.

	Liviviat brut	**Lixiviat traité par le RSD**	**Taux d'abattement**	**Valeurs limites générales de rejet dans les eaux superficielles et souterraines**
Al(mg/l)	7,03	5,397	23	10
Cd(mg/l)	<0,01	<0,01	99	0,25
Cr (mg/l)	14,66	11,71	20	0,5
Ni(mg/l)	3,432	<0,01	99	5
Fe (mg/l)	25,08	15,55	37	2
Zn (mg/l)	9,46	5,58	40	5

Les résultats du dénombrement des germes dans le système RSD montrent une faible réduction des germes.

Les germes totaux dans l'effluent brut ont une concentration moyenne de 75 10^5 (UFC/ml). La concentration après traitement par RSD a diminué à une valeur moyenne de 11 10^2 (UFC/ml) avec un taux d'abattement moyen qui dépasse 99 %.
Pour les streptocoques fécaux, le taux d'abattement est de 94,9 %. Ainsi il y a une réduction des germes pathogènes à savoir les staphylocoques avec un abattement de 91,8%.
Ceci pourrait être le résultat d'une part de la présence dans le lixiviat de substances toxiques comme les micropolluants organiques et minéraux qui ont un effet bactéricide, et d'autre part à des phénomènes biologiques tels que la prédation, le parasitisme, l'antagonisme et la compétition. Nous pouvons également suggérer cette élimination par l'effet de la décantation des germes présents dans les boues durant la phase de décantation.

Les résultats rapportés dans le tableau 15 reflètent une réduction des ions métalliques (Al et Ni) dans le lixiviat après le traitement par RSD, avec des concentrations inférieures aux normes marocaines. Alors que les autres métaux (Cr, Fe et Zn), leurs concentrations sont supérieures à celle des normes en vigueur.

La variabilité des taux d'abattement est due à la forme ionique de chaque métal, à la capacité de chaque bactérie à accumuler le métal et aux conditions physico-chimiques qui diffèrent d'un germe à un autre pour assurer l'abattement des métaux.



Photo 12: Décoloration du lixiviat traité par RSD

D'après la photo 12, nous pouvons observer une décoloration partielle de l'effluent de lixiviat traité par RSD. Ceci est dû à l'élimination de la matière organique du lixiviat, qui est liée à l'aération. Une bonne aération favorise le mélange et le contact entre la matière organique du lixiviat et les micro-organismes du réacteur (Aziz et *al*., 2011). Cependant, cette décoloration partielle pourrait être due à la présence des micro-organismes organiques qui ne sont pas bien éliminés dans le RSD et à la presence des MES dans le surnageant.

En comparaison avec d'autres études sur le traitement des lixiviats, le système proposé a prouvé son efficacité sans aucun dysfonctionnement pendant le traitement par rapport aux autres systèmes. Par exemple, le traitement par évaporation consiste en un traitement chimique pour éliminer les problèmes d'entartrage des carbonates, ce qui nécessite un nettoyage avec de l'acide sulfamique et de l'eau de rinçage à haute pression (Birchler et *al*., 1995).

Le système de traitement proposé a permis de réduire efficacement la charge polluante, prouvant la fiabilité de la technique. En outre, il offre une solution satisfaisante à un coût raisonnable, ainsi que la nécessité d'une main-d'œuvre limitée et d'un personnel technique peu qualifié, la possibilité de réutiliser les lixiviats traités par RSD pour l'irrigation, en particulier dans le RSD. Ce qui réduit le coût d'exploitation.

V. L'effet du nombre cycle par jour sur l'efficacité de l'élimination des matières organiques et de l'azote dans le RSD

Les résultats des taux d'abattement moyens des paramètres chimiques après traitement des lixiviats dans le RSD en fonction du nombre des cycles par jour sont représentés dans la figure 12.

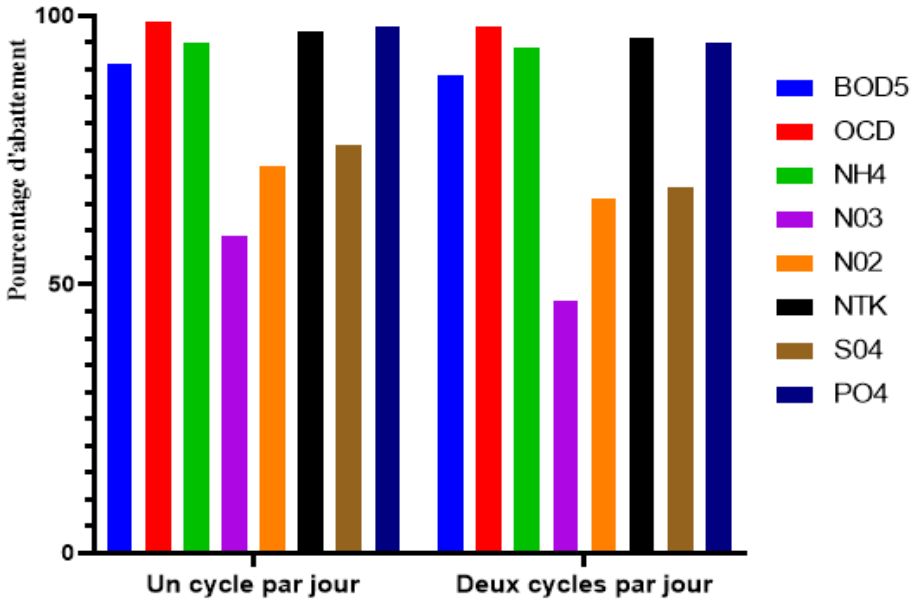


Figure 11: Taux de réduction des paramètres après traitement du lixiviat par le RSD avec un et deux cycles par jour.

D'après la figure 11, les taux d'abattement sont très similaires ; on peut constater que l'effluent à chaque point de traitement dans le bioréacteur présente une biodégradation similaire ou très proche par les micro-organismes. En raison d'une biomasse adaptée (forte acclimatation) à l'effluent, cette décomposition très proche se développe même avec deux cycles ou plus par jour. L'étude statistique (ANOVA à sens unique) a confirmé que l'effet (facteur 1) des cycles de fonctionnement du RSD (un et deux cycles par jour) sur l'élimination de la DCO, du NH_4+, du NO_2, du NO_3, du TKN, du PO_4, du SO_4 et de la DBO_5 n'avait aucun effet significatif entre un traitement avec un cycle et deux cycles par jour. Mais pour NO_3 et SO_4, il y avait un impact légèrement significatif (P = 0,05).

Le traitement avec deux cycles par jour à raison de 10 heures d'aération et 1h30 min de décantation a donné des résultats comparables en termes de concentration des polluants chimiques à la sortie du RSD et du taux de réduction qui n'ont pas une différence significative

par rapport à un cycle par jour, dont la phase de réaction est de 22 heures et deux heures de décantation. Le taux d'élimination de la matière organique est de 99% pour la DCO et de 91% pour la DBO5 avec une concentration de 1742 mg/l pour la DCO et 80 mg/l pour la DBO5 à la sortie du RSD avec un cycle par jour. Cela montre une autre fois que la boue de notre réacteur est bien adaptée, et la durée de l'aération n'a aucun effet sur la performance de notre système de traitement. Cela est en concordance avec la littérature qui trouve que la durée d'aération n'a pas affectée le taux d'élimination de la DCO et la DBO5 par le procédé RSD (Al-Aboodi et al., 2017). En outre, les concentrations de NH_4 et de NTK, après le traitement par un et deux cycles sont presque les mêmes. D'après, les résultats enregistrés dans la figure 12, l'augmentation du nombre de cycles par jour n'affecte pas la concentration de l'azote total Kjeldahl (NTK).

La phase d'aération favorise l'oxydation de l'ammonium de l'effluent à traiter en nitrite au cours d'une réaction de nitritation effectuée notamment par les bactéries du genre *Nitrosomonas*. Les ions nitrite sont ensuite oxydés en ions nitrate par une réaction de nitratation effectuée notamment par les microorganismes du genre *Nitrobacter* : c'est le processus de nitrification (Edeline, 1993). Lors du traitement du lixiviat par RSD, nous avons remarqué que la concentration en nitrate dans notre réacteur augmente, et cela s'explique par la nitrification dans les conditions aérobies.

Pour que la dénitrification ait lieu, le nitrate formé pendant la nitrification doit être dénitrifié en azote moléculaire par un micro-organisme anaérobie facultatif (*Pseudomonas sp*). La forte concentration de nitrates dans notre réacteur montre l'absence de ces bactéries.

En ce qui concerne l'effet du nombre de cycles sur l'élimination de l'othophosphate, les résultats présentés dans le tableau montrent que la concentration d'othophosphate avec un et deux cycles est restée presque la même. Nous constatons donc que la durée de l'aération n'a pas affecté le taux d'élimination de l'orthophosphate.

Conclusions

Les résultats de la première phase du traitement des lixiviats ont montré une bonne efficacité de notre système RSD après deux mois de fonctionnement. Le système de traitement proposé, constitué d'un réacteur séquentiel discontinu fonctionnant dans des conditions aérobies, a montré une grande capacité d'élimination des lixiviats. Il a atteint une réduction de 90% de la DBO_5, 85% de la DCO, 70% du NO_2 et 84% du NH_4. Ce système de traitement a permis de réduire la pollution fécale et les germes pathogènes. De plus, notre système a prouvé son

efficacité dans la réduction des éléments métalliques dans les lixiviats. En effet, ces résultats ont fait l'objet d'un dépôt de brevet au niveau national et international (numéro de publication international : WO2020231245A1). Et d’une publication scientifique (Amakdouf et *al*., 2021).

Chapitre II : Traitement biologique des lixiviats dans le réacteur séquentiel discontinu (RSD) couplé à la filtration

Introduction

Notre objectif principal dans ce chapitre est le traitement des lixiviats de la décharge de Fés par le procédé biologique avec un réacteur séquentiel discontinu couplé à la filtration sur colonne. Nous avons utilisé les cendres volantes comme un support de filtration, qui sont des déchets de la centrale thermique de Jorf Lasfar à El jadida.

I. Caractérisation de la cendre volante

I.1 Aspect microscopique des cendres volantes

D'après l'observation morphologique des cendres volantes, ces dernières sont constituées de particules sphériques, qui sont responsables de la nature de la porosité puisque les interstices créés entre elles forment des pores irréguliers. Comme le montre la figure 12, les cendres volantes présentent une morphologie irrégulière de la taille et de la forme des particules avec différentes formes et tailles de particules.

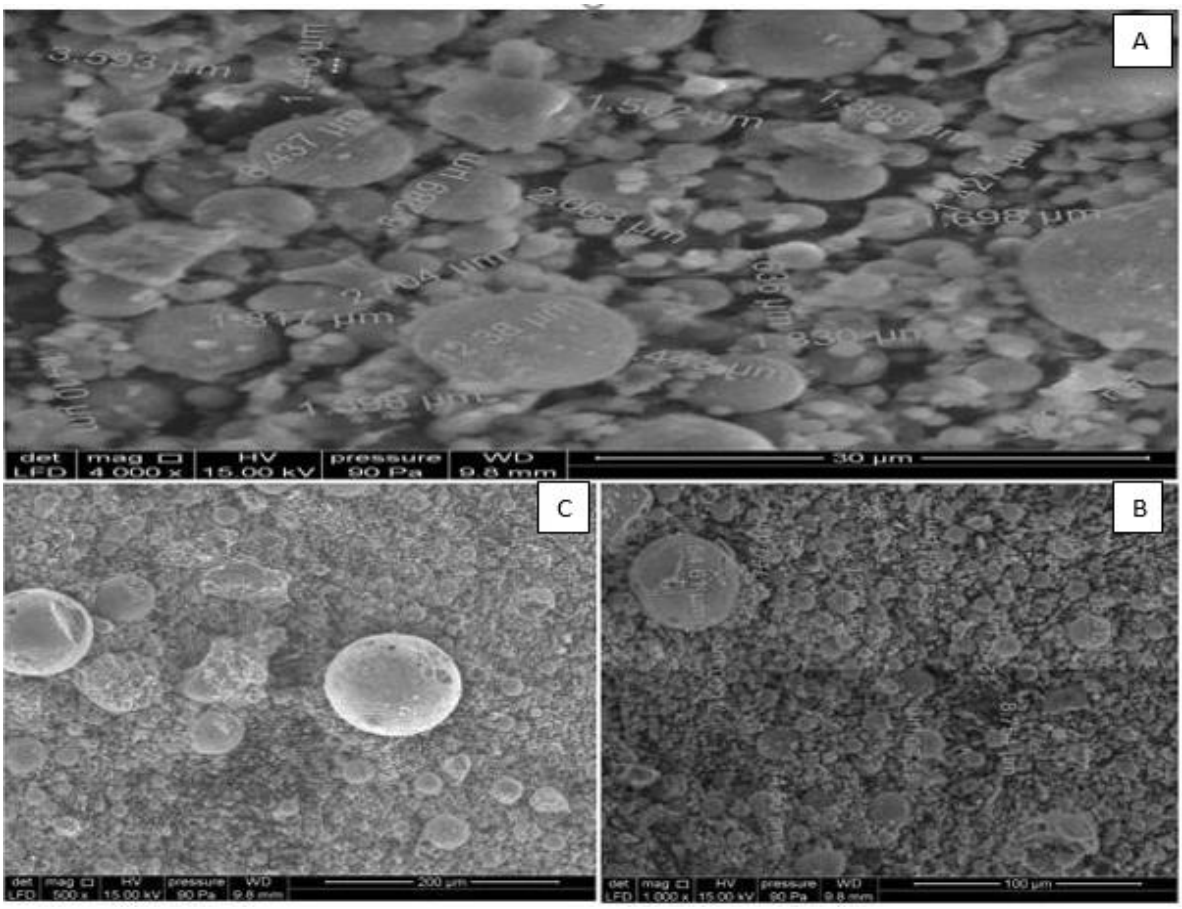


Figure 12: Observations de la structure des cendres volantes au microscope électronique à balayage (MEB), (A) Grossissement 30x, (B) Grossissement 100x, et (C) Grossissement 200x.

I.2 Caractérisation chimique des cendres volantes

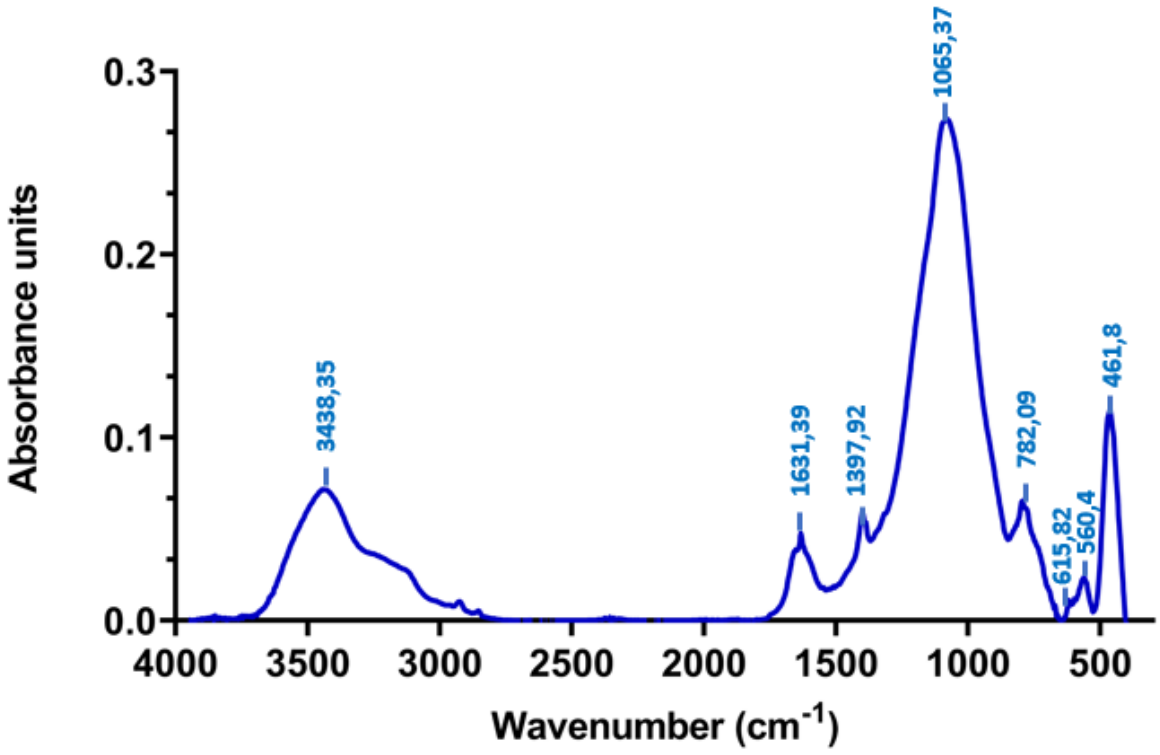


Figure 13 : Spectres FT-IR des cendres volantes

Tableau 16 : les principales bandes vibratoires IR observées dans les cendres volantes

Bandes (cm^{-1})	**Attribution**	**Référence**
3438,35	l'élongation du groupement OH	(Qiu et al., 2018) (Khraisheh et al., 2005)
1631,39	vibration O-H de l'eau adsorbée	(Toniolo et al., 2017) (Feng et al., 2020)
1397,92	élongation (C-O) de la calcite	(Wang et al., 2022)
1065,37	Vibration de valence de la liaison Si-O-Si	(Gohatre et al., 2020)
782,09	Vibration de la liaison Si-O-Si du quartz	(Mudgal et al., 2020)
615,82	Vibration de la liaison O-Si-O	(Lv et al., 2020)
560,4	Vibration de la liaison Si-O dans la mullite	(Jang and Lee, 2016)
461,8	Vibration de la liaison Si-O-Si du quartz	(Hawa and Prachasaree, 2020)

La figure 13 et le tableau 16 représentent les différentes bandes caractéristiques des cendres volantes ainsi que leur attribution. Le spectre relatif au support de filtration utilisé dans la présente étude révèle une bande large située autour de 3438,35 (cm^{-1}) et attribuée principalement à l'élongation du groupement OH. En outre, une vibration O-H de l'eau adsorbée est apparue à 1631,39 (cm^{-1}). Le pic intense situé à la position 1065,37 (cm^{-1}) correspond à la vibration de valence du silicon dioxyde Si-O-Si. La détection de la liaison Si-O-Si qui caractérise le quartz est justifiée également par les deux pics situés à 782,09 et à 461,8 (cm^{-1}). Et finalement, la bande apparue a 560,4 (cm^{-1}) est relative à la vibration de la liaison Si-O dans la mullite. D'après l'interprétation des résultats obtenue, on peut déduire que la mullite et le quartz peuvent être considérés parmi les éléments majeurs dans les cendres volantes brutes.

II. Couplage du système de traitement par RSD et de la filtration

Une fois la colonne est garnie, nous avons pulvérisé la colonne avec les lixiviats traités par le RSD. Le filtrat est recueilli et analysé afin de déterminer la performance de dépollution du système filtrant. D'après l'ensemble des résultats obtenus durant le traitement, nous avons constaté l'efficacité de ce système.

Tableau 17: Résultats de l'analyse des lixiviats après le traitement par RSD couplé à la colonne de filtration au Premier jour de filtration

	Lixiviat brut	**Lixiviat traité par RSD**	**Lixiviat traité par filtration**	**% D'abattement**	**Valeurs limites générales de rejet dans les eaux superficielles et souterraines** (M.E.M.E.E, 2014)
pH	8,07	7,76	9,39	-	5,5-9,5
Conductivité électrique (ms/cm)	ND	ND	ND	ND	2,7
NH_4^+ (mg/l)	320,01	93,3	2,4	99	-
NO_3^- (mg/l)	6,08	595	5,35	12	-
NO_2^- (mg/l)	8,29	2,94	0,16	98	-
SO_4^{2-} (mg/l)	210	365	108	48	600
PO_4^{3-} (mg/l)	2,69	5,46	0,18	93	2
DCO (mg/l)	10545	1030,03	272,72	97	500
DBO_5 (mg/l)	7300	1600	500	93	100

MES (g/l)	2,48	4,5	0	100	100 (mg/l)
NTK (g/l)	2,6	0,5	0,1	96	-

Tableau 18: Résultats de l'analyse des lixiviats après le traitement RSD couplé à la colonne de filtration après 15 jours de filtration

	Lixiviat brut	**Lixiviat traité par RSD**	**Lixiviat traité par filtration**	**% d'abattement**	**Valeurs limites générales de rejet dans les eaux superficielles et souterraines** (M.E.M.E.E, 2014)
pH	8,48	7,72	9,34	-	5,5-9,5
Conductivité électrique (ms/cm)	ND	ND	ND	-	2,7
NH_4^+ (mg/l)	335,76	80,98	49,13	85	-
NO_3^- (mg/l)	6,14	1104,45	74,23	-	-
NO_2^- (mg/l)	15,21	5,96	3,64	76	-
SO_4^{2-} (mg/l)	217,08	554,58	111,25	48	600
PO_4^{3-} (mg/l)	2,46	0,81	0	100	2
DCO (mg/l)	17460,10	3363,63	100	99,4	500
DBO_5 (mg/l)	10200	580	0	100	100
NTK g/l	ND	ND	ND	-	100 (mg/l)
MES (mg/l)	1290	2250	40	97	-



Photo 13: Décoloration du lixiviat filtré par les cendres volantes

D'après les tableaux 17 et 18, nous constatons une réduction très importante de la DCO, la DBO_5, les MES, les formes azotées, l'orthophosphate, les sulfates, qui répondent à la norme marocaine de rejet et aussi une augmentation du taux d'abattement après 15 jours de filtration. Nous expliquons cela par la formation du biofilm au niveau de la colonne de filtration, ainsi que la matrice silico-alumineuse des cendres volantes.

Tableau 19: Composition chimique des cendres volantes obtenue par ICP (EL Fadel, 2013).

élément chimique	SiO_2	Al_2O_3	Fe_2O_3	$\sum SiO_2 + Al_2O_3+Fe_2O_3$	CaO	MgO	SO_3	K_2O
Pourcentage	57	34	3,4	94,4	10	0,02	0,5	1,2

Les résultats de l'analyse chimique par fluorescence X, reportés dans le tableau 20, montrent que pour les cendres volantes, la somme des pourcentages des éléments : SiO_2, Al_2O_3, et Fe_2O_3 est de 94,4%, ce qui permet de les classer parmi les cendres les plus silico-alumineuses.

Le tableau 20 montre les résultats des analyses physico-chimiques des lixiviats après le traitement par RSD et la filtration durant deux mois, qui sont comparés au lixiviat brut pour déterminer le taux d'abattement. Les résultats sont présentés sous forme de valeurs moyennes du lixiviat brut et de la valeur moyenne après le traitement par RSD couplé à la colonne filtration au cours de deux mois de traitement.

Tableau 20: Résultats de l'analyse des lixiviats après le traitement RSD couplé à la colonne de filtration après deux mois de traitement.

	Valeurs des lixiviats bruts	**Valeurs des lixiviats traités avec le RSD**	**Valeurs des lixiviats traités par filtration**	**% d'abattement**	**Valeurs limites générales de rejet dans les eaux superficielles et souterraines** (M.E.M.E.E, 2014)
pH	7,71	7,18	8,24	-	5,5-9,5
Conductivité électrique (ms/cm)	42	35,3	18,99	54	-
NH_4^+ (mg/l)	297	169	1,2	99	-
NO_3^- (mg/l)	4,63	389	3,79	18	-
NO_2^- (mg/l)	8,20	4,91	0,95	88	-
SO_4^{2-} (mg/l)	670	378,58	54	91	600

PO_4^{3-} (mg/l)	3,2	2,5	0,13	95	2
DCO (mg/l)	12878,78	2000	136,36	98	500
DBO_5 (mg/l)	6500	1800	25	99	100
MES(g/l)	2,5	0,5	0	100	100 (mg/l)
NTK (g/l)	3,04	2,93	0	100	-

En outre, la filtration permet également une nitrification presque totale avec un taux d'abattement de 99% des ions ammonium. Après couplage avec le système de filtration, on observe une réduction très importante de la DCO, de la DBO5, des MES, des formes azotées, de l'orthophosphate, des sulfates, et jusqu'à une réduction de 100% de MES à travers la colonne de filtration avec des concentrations très inférieures, à celles de la norme marocaine de rejet. Les points suivants peuvent expliquer cette forte élimination :

-La petite taille des particules des cendres volantes ne dépassant pas 20 μm, ce qui permet une augmentation de la surface d'adsorption résultant de la diminution des dimensions des grains d'adsorbant.

- La forte teneur en SiO2 (structure silico-alumineuse) des cendres volantes (Xu and Shi, 2018). C'est un adsorbant à haute polarité électrique, riche en silice, aluminium et fer, et chargé positivement. Ce dernier contribue à la neutralisation des charges négatives des nitrites, nitrates, orthophosphates et sulfates, ce qui les piègent par des liaisons chimiques. On peut également expliquer cette augmentation des taux d'abattement par la formation de biofilms à l'intérieur de la colonne. Les polluants de l'effluent peuvent soit s'adsorber sur la membrane cellulaire des organismes formant les biofilms, soit être assimilés par les biofilms (Backhouse and Bolliger, 1987).

Le tableau 21 montre les résultats des analyses microbiologiques du lixiviat avant et après traitement par RSD couplé à la filtration, et qui montre que les indicateurs de contamination fécale (Coliformes fécaux et Streptocoques fécaux) sont éliminés avec un taux d'abattement de 100% et une absence totale des germes pathogènes (Staphylocoques). De même, il y a une élimination complète des levures.

Tableau 21 : Résultats des analyses microbiologiques des lixiviats bruts traités par RSD couplé à la filtration.

	Valeur de l'effluent brut	**Valeur du lixiviat traité par RSD**	**Valeur du lixiviat traité par filtration**	**Taux d'abattement %**
Coliformes totaux (UFC/mL)	$86\ 10^4$	$70\ 10^4$	0	100
Coliformes fécaux (UFC/mL)	0	0	0	-
Streptocoques fécaux (UFC/mL)	7800	0	0	100
Staphylocoques (UFC/mL)	$57\ 10^3$	$24\ 10^3$	0	100
Levures (UFC/mL)	$2\ 10^5$	$1{,}1\ 10^4$	0	100

Tableau 22 : Résultats des métaux lourds de l'effluent du lixiviat traité par RSD couplé à la filtration.

	Liviviat brut	**Lixiviat traité par le RSD**	**Lixiviat traité par filtration**	**% d'abattement**	**Valeurs limites générales de rejet dans les eaux superficielles et souterraines** (M.E.M.E.E, 2014)
Al(mg/l)	7,03	5,397	0,622	91	10
Cd(mg/l)	<0,01	<0,01	<0,01	-	0,25
Cr (mg/l)	14,66	11,71	0,411	97,1	0,5
Ni(mg/l)	3,432	<0,01	<0,01	-	5
Fe (mg/l)	25,08	15,55	0,093	99,6	2
Zn (mg/l)	9,46	5,58	0,0923	98	5

Les résultats rapportés dans le tableau 22 reflètent une réduction des ions métalliques dans le filtrat de lixiviation, avec des concentrations inférieures aux normes marocaines pour les rejets directs et des taux d'abattement élevés.



Photo 14: Décoloration du lixiviat traité par RSD et filtration A : lixiviat brut, B : lixiviat traité par RSD, C&D : lixiviat traité par filtration après couplage (réservoir 1 et réservoir 2).



Photo 15: Couleur des lixiviats à la sortie du système de filtration

D'après les photos 14 et 15, nous avons observé une décoloration presque totale de l'effluent du lixiviat traité par filtration. Ceci s'explique par la rétention des matières organiques et minérales par les cendres volantes. D'après les tableaux 21 et 22, le système de traitement proposé a permis d'éliminer tous les germes de contamination fécale et les agents pathogènes. Et cela pourrait s'expliquer par le fait que les bactéries sont retenues dans le support (cendres

volantes) par adsorption. De plus, il y a une réduction du taux de Al, Cr, et Zn jusqu'à 95%, 97%, et 98%, respectivement. Ceci peut être justifié par la teneur élevée en SiO2 (structure silico-alumineuse) de ces cendres (Adamiec et al., 2008). Il a été rapporté par N. Koshy et D. Singh (2016) que la structure silico-alumineuse pouvait retenir les métaux lourds en les piégeant dans leurs pores. C'est un adsorbant avec une forte polarité électrique en plus de sa richesse en silice, aluminium et fer, qui sont chargés positivement (Koshy and Singh, 2016). D'ailleurs, selon (Adams et *al*., 2019), le silicate est l'un des principaux groupes fonctionnels qui existent dans les adsorbants (Adams et al., 2019). En comparaison avec d'autres études sur le traitement des lixiviats, le système proposé a prouvé son efficacité sans aucun dysfonctionnement pendant le traitement par rapport aux autres systèmes.

En outre, le test ANOVA unidirectionnel a confirmé que la combinaison du RSD et de la filtration à l'aide de cendres volantes a affecté de manière significative l'élimination de tous les paramètres physico-chimiques, des micro-organismes pathogènes et des métaux lourds (tableaux 21, 22 et 23) ($P = 0,001$) ($\alpha = 0,05$).

III. Colmatage et régénération de la colonne de filtration

La durée de vie du support de filtration et son colmatage à court terme sont parmi les principaux inconvénients de la technique de filtration. Il est évident que les cendres volantes ont une forte capacité épuratrice par rapport aux autres supports tels que le sable et le charbon actif, mais il faut aussi étudier leur durée de vie et leur colmatage. Pour cela, nous avons suivi la concentration de la DCO et DBO_5 après la filtration.

Nous avons effectué un prélèvement à la sortie du pilote chaque semaine et analysé la DCO et la DBO_5 au cours des 16 semaines (figure 14), les taux d'abattement du la DCO et la DBO_5 au cours du traitement des lixiviats par filtration en utilisant les cendres volantes comme support. Nous observons un taux d'abattement de DBO5 et de la DCO est élevé du premier échantillon au $9^{éme}$ échantillon.

La diminution des taux d'abattement de l'ensemble des paramètres ($9^{ème}$ semaine de filtration), est due au colmatage, mais après un lavage simple à l'eau de robinet de la colonne de filtration, nous avons obtenu une augmentation à nouveau des taux d'abattement de tous les paramètres.

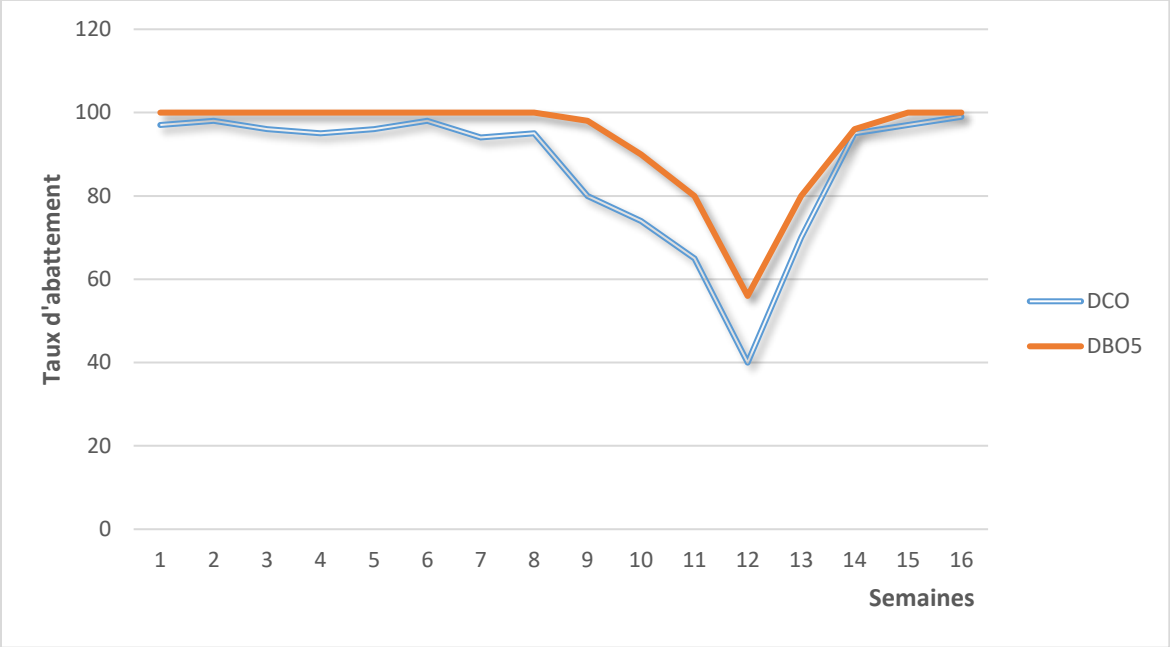


Figure 14: Variation des taux d'abattement de la DCO et la DBO5 au cours du traitement des lixiviats dans le pilote.

Conclusion

Notre pilote a montré une forte performance en termes d'abattement de la pollution chimique, métallique et microbiologique des lixiviats de la décharge contrôlée de la Fès. Ceci est dû au système de filtration qui est garni avec les cendres volantes, qui ont montré une forte capacité de filtration. La totalité des paramètres chimiques répondent aux normes de rejet en vigueur. Un abattement des métaux lourds qui varie entre 95 et 99%, avec un filtrat final qui répond aux normes de rejet. Une élimination totale des germes recherchés surtout dans la colonne de filtration, ce qui montre la grande efficacité de notre système de filtration avec les cendres volantes comme support de filtration. Une décoloration presque totale des lixiviats après filtration.

Chapitre III : La Bio-augmentation

Introduction

La bio-augmentation est un processus qui consiste à introduire des micro-organismes ayant des capacités cataboliques spécifiques dans des environnements contaminés pour accélérer la dégradation des polluants ciblés (Shao et *al.*, 2014). L'objectif principal de cette partie, l'utilisation de souches bactériennes isolées de lixiviat et de boues activées pour traiter cet effluent. L'efficacité du traitement est évaluée en mesurant la demande chimique en oxygène (DCO) et les taux d'élimination des métaux lourds (Cr, Fe, Zn et Ni).

I. Caractérisation morphologique et microscopique des souches isolées à partir des lixiviats

La détermination des caractères macroscopiques des isolats nous a permis de détecter 4 morphotypes différents sur milieu LB agar et 4 sur milieu GN. Les souches S2, S4, S7, S13 et I1 se caractérisent par une forme ronde alors que L3, L4 et L9 ont une forme irrégulière. Toutes les colonies des isolats se caractérisent par une élévation plate et sont tout opaques. La taille varie entre une taille punctiforme pour S2, S7, S13, L1, L3 et L4 et non punctiforme pour S4 et L9. En ce qui concerne la surface, nous avons trouvé que toutes les colonies des isolats sont lisses sauf L4 qui se caractérise par une surface rugueuse. En outre, L1, L3, S2 et S13 sont Gram négatives alors que L4, L9, S4 et S7 sont Gram positives.

I.1 Dosage de l'ADN

Le dosage a été effectué au (CNRST), la figure 15 présente différentes concentrations d'ADN extrait à partir de l'inoculum de chaque isolat. L'isolat **S13** avait la concentration d'ADN la plus élevé 168,4 ng/ul par rapport aux autres isolats. L'isolat **S7** a une concentration d'ADN de 55,77 ng/ul suivi par l'isolat **S4** qui a une concentration de 45,25 ng/ul, 26,63 pour l'isolat **S2**, 17,62 pour l'isolat **I1**. Par la suite l'isolat **I2,** la concentration est de 11,97 ng/ul, ainsi que l'isolat **I3** de 10,05 ng/ul. Alors que l'isolat **I4** a une faible concentration par rapport aux autres (2,593 ng/ul).

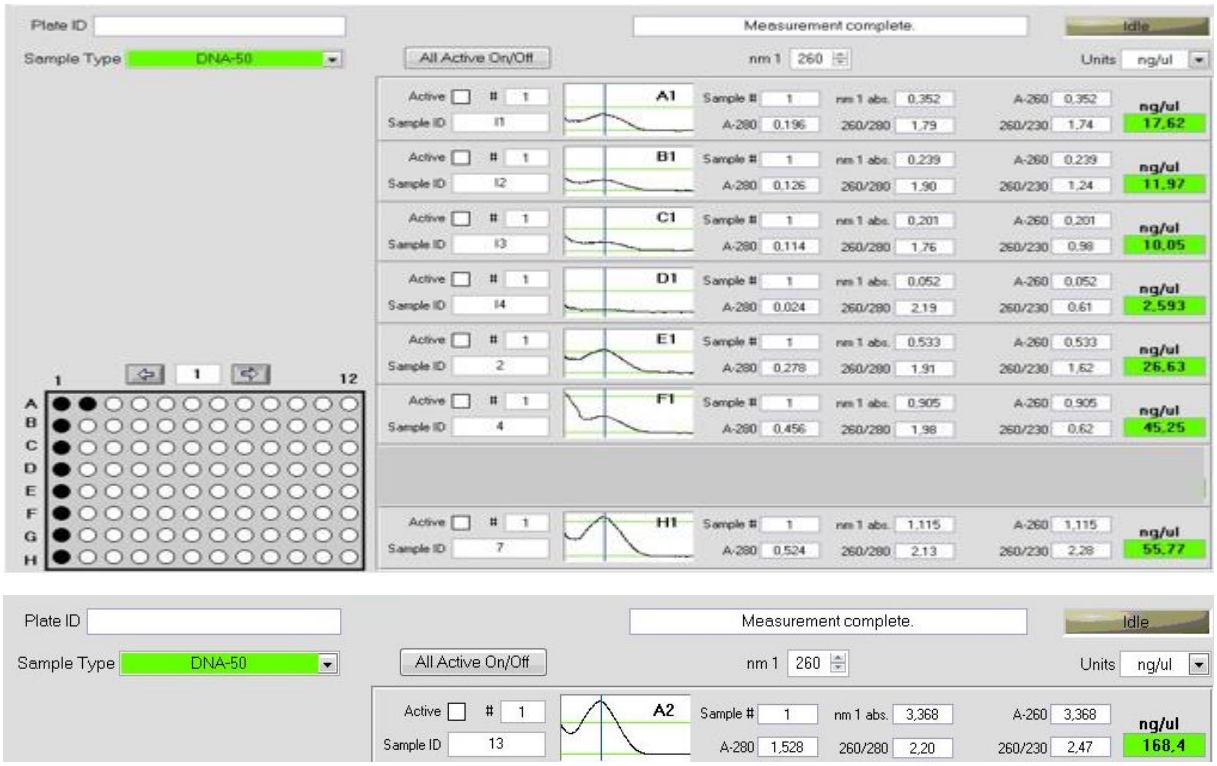


Figure 15 : Concentrations d'ADN extrait à partir des huit isolats.

I.2 Electrophorèse sur gel d'agarose

La figure 16 montre la migration des fragments d'ADN sur le gel d'agarose à 1% en présence d'un marqueur de poids moléculaire de 1kb. La photo est visualisée par le système de photo documentation « **G Box** ».

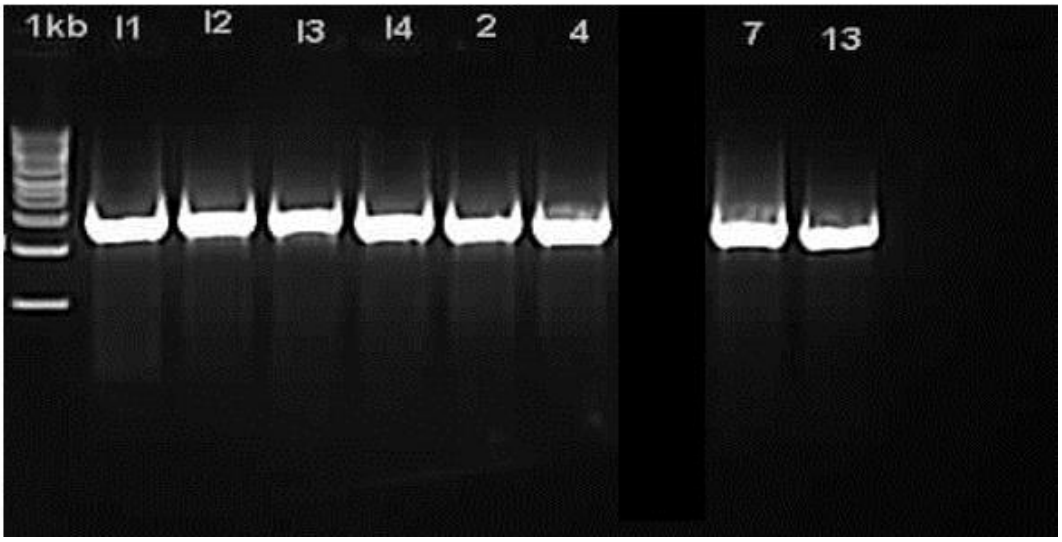


Figure 16 : l'électrophorèse sur gel d'agarose (1% w/v)

I.3 Identification moléculaire

La comparaison des séquences partielles amplifiées du gène de l'ARNr 16S par BLAST (programme NR 2.9.0+) est réalisée à travers le Centre National de l'information et de Biotechnologie (NCBI). Il s'est avéré que 7 isolats appartiennent au genre *Bacillus* notamment les espèces : *B. cereus, B. thuringiensis, B. proteolyticus, B. subtilis, B. mojavensis, B. licheniformis, et B. halotolerans.* Alors qu'un seul isolat est identifié comme *Myroides sp. strain LoEW2-* (tableau 23) (Amakdouf et *al*., 2022).

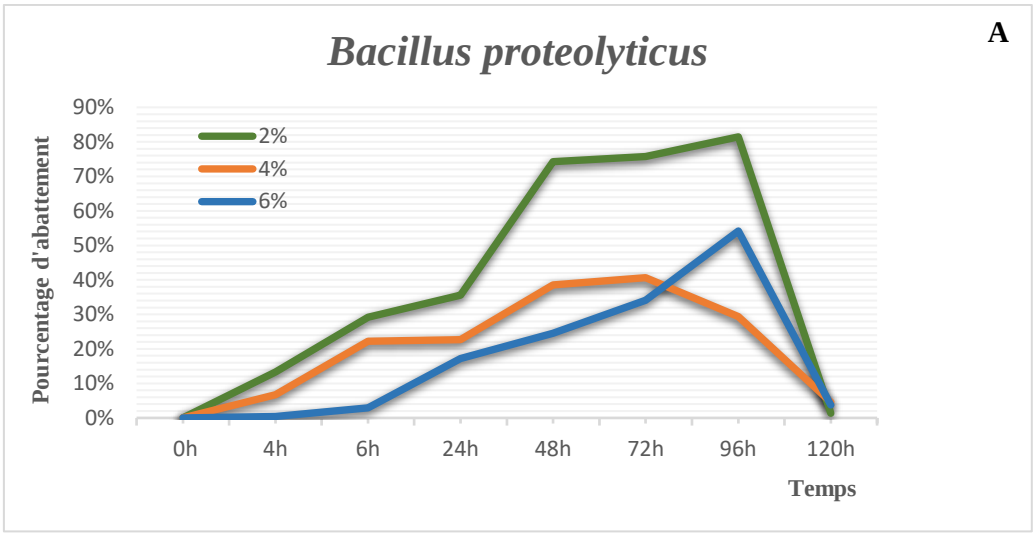
Table 23 : Identification moléculaire

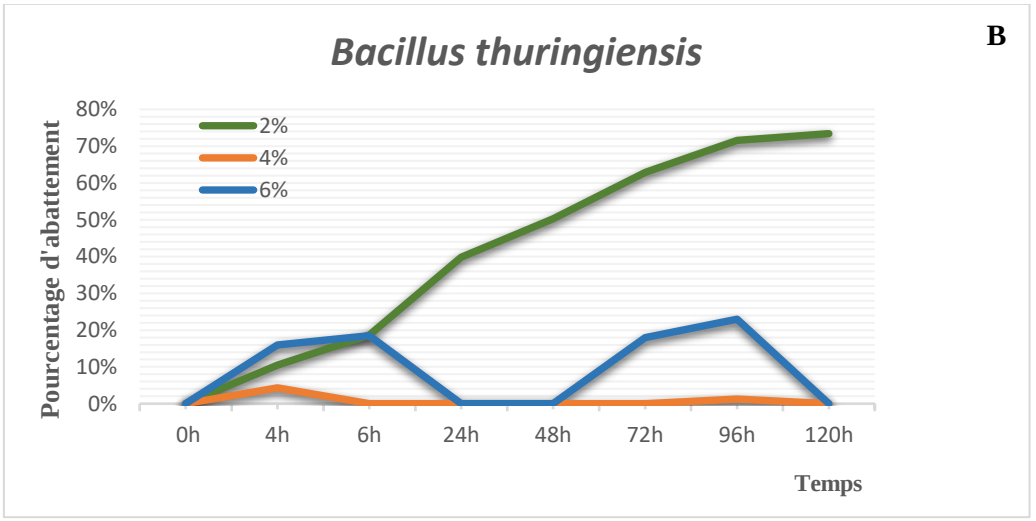
Isolats	Genre/Espèce	Numéro d'accession
S2	*Bacillus cereus*	MW648333
S4	*Bacillus thuringiensis*	MW659446
S7	*Bacillus proteolyticus*	MW659447
L1	*Bacillus halotolerans*	MW659452
S13	*Myroides sp. strain LoEW2-1*	MW659479
L3	*Bacillus subtilis*	MW659822
L4	*Bacillus mojavensis*	MW659923
L9	*Bacillus licheniformis,*	MW680935

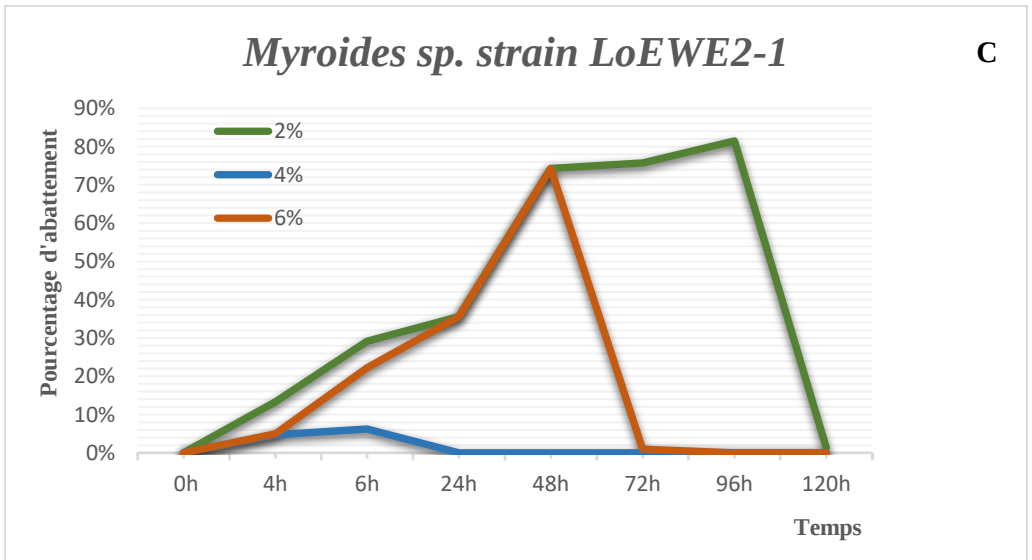
II. Performance des isolats dans l'élimination de la DCO et les métaux lourds

II.1 Elimination de la DCO des lixiviats bruts

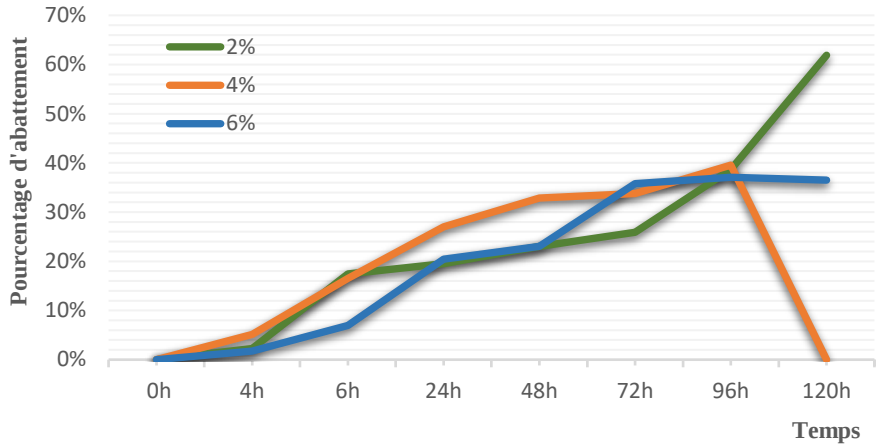
Nous avons mesuré l'évolution de l'élimination de la DCO par les huit souches bactériennes en culture pure en different concentration en fonction du temps à l'échelle du laboratoire. Les résultats que nous avons obtenus sont illustrés dans la figure 17.


A
Bacillus proteolyticus
Pourcentage d'abattement
90%
80%
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
2%
4%
6%
0h
4h
6h
24h
48h
72h
96h
120h
Temps

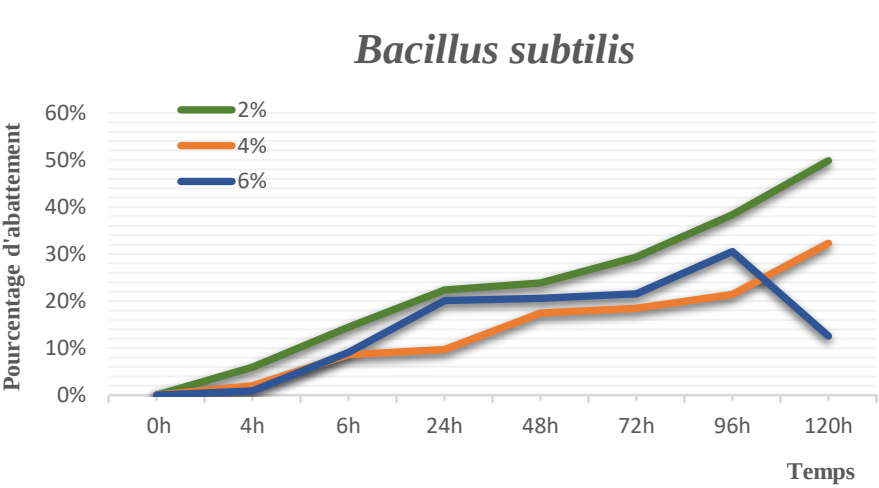

B
Bacillus thuringiensis
Pourcentage d'abattement
80%
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
2%
4%
6%
0h
4h
6h
24h
48h
72h
96h
120h
Temps


C
Myroides sp. strain LoEWE2-1
Pourcentage d'abattement
90%
80%
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
2%
4%
6%
0h
4h
6h
24h
48h
72h
96h
120h
Temps

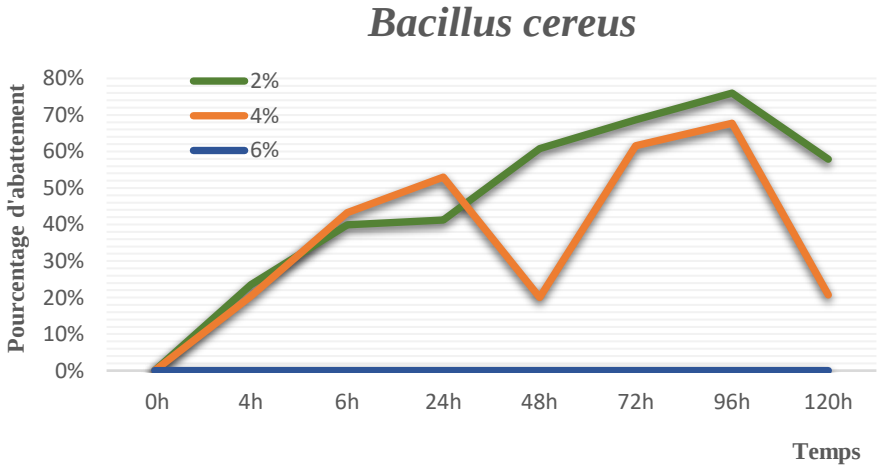
D


Bacillus halotolerans
Pourcentage d'abattement
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
2%
4%
6%
0h
4h
6h
24h
48h
72h
96h
120h
Temps

E


Bacillus subtilis
Pourcentage d'abattement
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
2%
4%
6%
0h
4h
6h
24h
48h
72h
96h
120h
Temps

F


Bacillus cereus
Pourcentage d'abattement
80%
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
2%
4%
6%
0h
4h
6h
24h
48h
72h
96h
120h
Temps

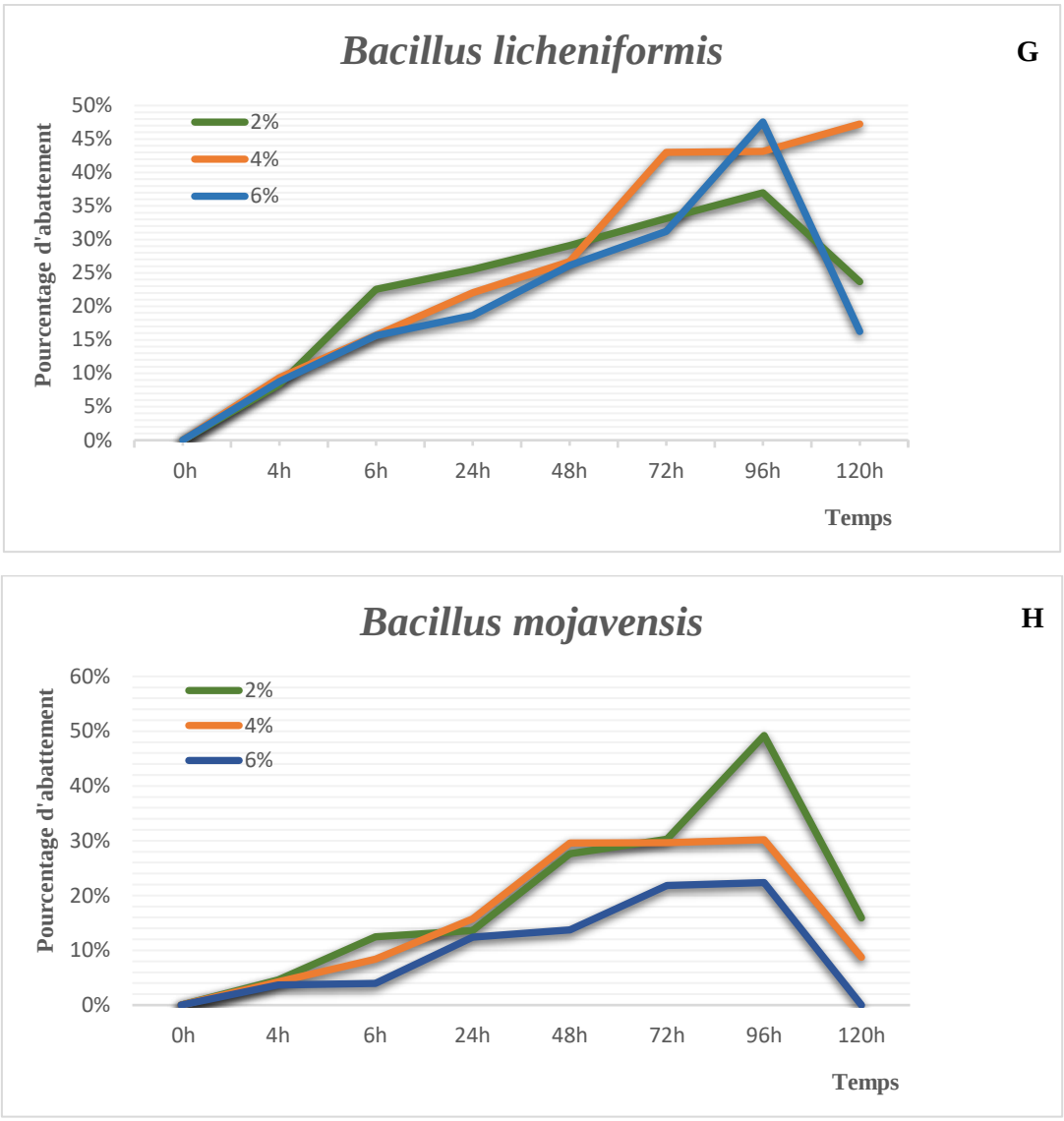


Figure 17: Taux d'abattement de la DCO avec les 8 souches bactériennes à 2%, 4% et à 6%

Les résultats de la figure 17 montrent que le traitement des lixiviats par les 8 souches bactériennes réduit généralement la DCO. Mais le taux d'élimination de la DCO n'est pas le même pour ces 8 espèces bactériennes dans les trois concentrations testées (2%, 4% et 6%). D'après la figure, la concentration 2% donne les meilleurs résultats par rapport aux autres.

Nous remarquons que *Myroides sp. strain LoEW2.1* représente le taux de dégradation de la matière organique le plus élevé (81,5%) en comparaison avec les autres souches bactériennes étudiées. Quant aux sept autres bactéries, Le taux de l'élimination maximum est de 75%, pour *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis* 73%, 63% pour *Bacillus proteolyticus* après 96h, *Bacillus licheniformis* 58%, *Bacillus subtilis* 49%, et *Bacillus mojavensis* 49%; respectivement

après la même période d'incubation (96 h) (4 jours). Alors que *Bacillus halotolerans* représente un taux de dégradation de 61% après 120h d'incubation.

Après 96h de culture, la concentration de la DCO a commencé à augmenter pour presque toutes les souches bactériennes. Cela pourrait s'expliquer par l'épuisement des matières nutritives après 96h, et les souches cessent de se multiplier et meurent. En conséquence, la concentration de la DCO augmente.

L'étude statistique (ANOVA two way) montre que le facteur 1 (concentration bactérienne) et le facteur 2 (souches) ont un effet significatif sur l'élimination de la DCO ($P < 0,0001$, pour les deux facteurs). De plus, cet effet est combiné, car la valeur *P* de l'interaction entre ces deux facteurs est inférieure à 0,0001. Selon le test t, chaque concentration bactérienne possède un impact significatif sur l'élimination de la DCO, mais la concentration 2% manifeste un effet statistiquement fort que celui de 4% et de 6% t ($P < 0,0001$) (Amakdouf et *al*., 2022).

II.2 Élimination des métaux lourds

Les résultats du suivi de l'élimination des métaux lourds par les 8 souches bactériennes sont présentés dans les figures 18, 19 et 20.

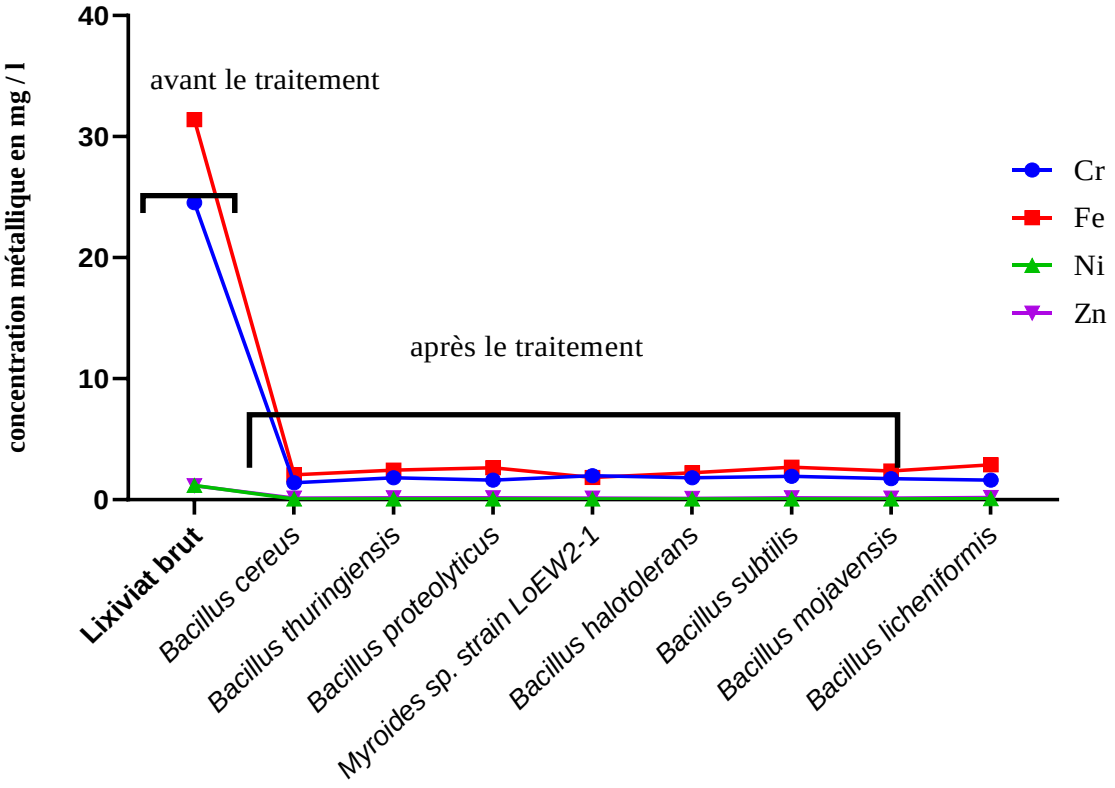


Figure 18: Elimination des métaux lourds avec les huit souches bactériennes en culture pure à 2% après 4 jours d'incubation.

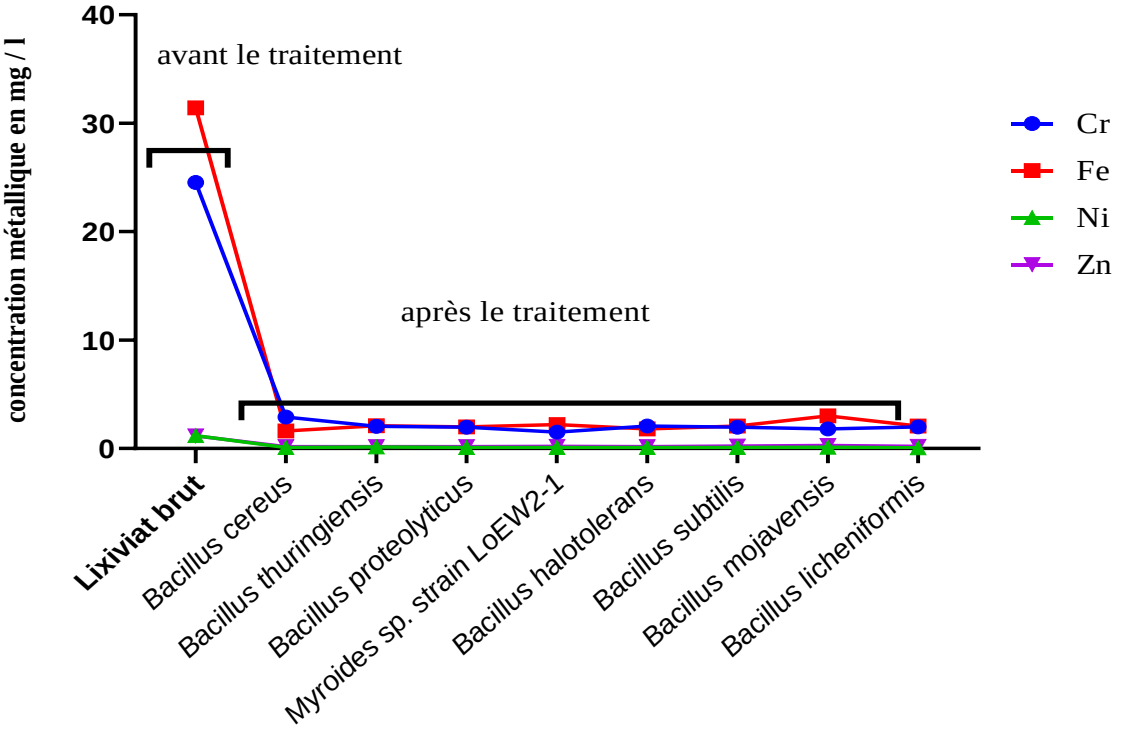


Figure 19: Elimination des métaux lourds avec les huit souches bactériennes en culture pure à 4% après 4 jours d'incubation.

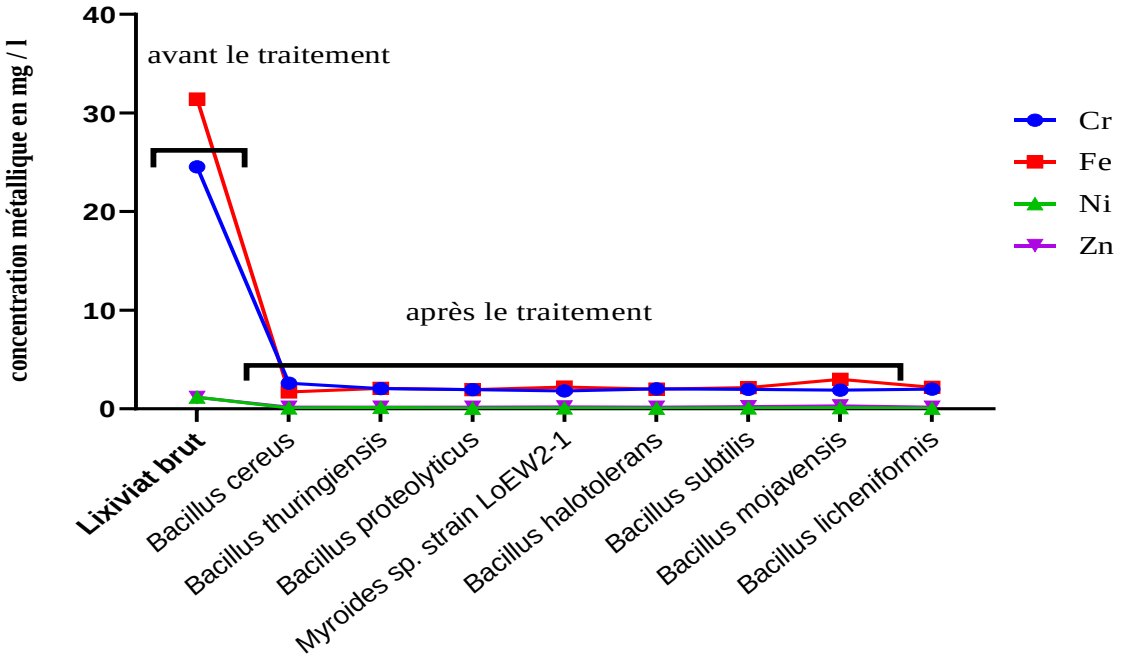


Figure 20: Elimination des métaux lourds avec les huit souches bactériennes en culture pure à 6% après 4 jours d'incubation.

Tableau 24: Taux d'abattement d'élimination des métaux lourds avec les huit souches bactériennes à trois concentrations 2%, 4% et 6%.

	Cr			**Zn**			**Fe**			**Ni**		
	2%	**4%**	**6%**	**2%**	**4%**	**6%**	**2%**	**4%**	**6%**	**2%**	**4%**	**6%**
Bacillus cereus	93%	88%	89%	93%	94%	86%	94%	94%	92%	88%	84%	85%
Bacillus thuringiensis	92%	91%	91%	92%	93%	93%	94%	87%	88%	86%	85%	85%
Bacillus proteolyticus	93%	92%	92%	91%	91%	93%	94%	94%	94%	87%	86%	86%
Myroides sp. strain LoEW2-1	91%	93%	92%	94%	92%	92%	95%	92%	93%	88%	82%	83%
Bacillus halotolerans	92%	91%	91%	92%	94%	93%	94%	93%	94%	90%	84%	85%
Bacillus subtilis	92%	92%	92%	91%	93%	93%	94%	92%	93%	86%	82%	81%
Bacillus mojavensis	92%	92%	92%	92%	90%	92%	95%	90%	95%	87%	75%	87%
Bacillus licheniformis	93%	91%	91%	90%	93%	93%	92%	94%	94%	85%	83%	85%

Les figures 18, 19 et 20 représentent la concentration des métaux lourds dans les lixiviats bruts et après incubation avec les 8 souches bactériennes utilisées pour le traitement. Les niveaux de métaux lourds dans les lixiviats bruts pour le Cr **(**24,528 mg/L), le Zn (1,16 mg/l), le Fe (31,41 mg/L), et le Ni (1,18mg/l). Après 4 jours d'incubation de nos souches utilisées à trois concentrations 2%, 4% et 6%, le pourcentage d'élimination des métaux lourds Cr, Fe, Ni, et Zn est très proche pour toutes ces souches bactériennes (tableau 24). Pour le chrome, le taux d'élimination varie entre 91% et 93%. Le zinc représente un taux d'abattement qui varie entre 90% et 94%. Le fer présente un taux d'abattement compris entre 92% et 95%. En ce qui concerne le nichel, ce métal représente un taux d'abattement inferieur que les autres métaux, qui varie entre 85% et 90%.

L'étude statistique réalisée par le test ANOVA bidirectionnel indique que le facteur 1 (concentration bactérienne) et le facteur 2 (souches) avaient un effet significatif sur l'élimination du Cr, Fe, Ni et Zn (*P <0,0001* pour les deux facteurs). De plus, cet effet est combiné, car la valeur *P* de l'interaction entre ces deux facteurs est inférieure à 0,0001. Selon le test t, chaque concentration bactérienne manifeste un impact significatif sur l'élimination de ces métaux

lourds, mais la concentration 2% est considérée comme optimale pour un meilleur abattement de la DCO que les autres concentrations 4% et 6%.

Ces résultats montrent que les souches étudiées ont un potentiel significatif de l'élimination des métaux lourds. Selon la littérature, la bio-augmentation utilisant les bactéries est un procédé plus efficace et rapide (Cavinato et *al*., 2017; Cycoń et *al*., 2017; Sun et *al*., 2020) .

Chez les microorganismes et en particulier les bactéries, l'élimination des métaux lourds se produit par les trois méthodes de l'élimination de la matière organique, à savoir la bioaccumulation, la biotransformation et la biosorption (Igiri et al., 2018; Jobby et *al*., 2018) . Les espèces de *Bacillus spp.* ont la capacité d'accumuler les métaux lourds (Sizentcov et *al*., 2020). *Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis* sont parmi les espèces les plus reconnues par leurs effets accumulateurs des métaux comme Zi, de Cd et de le Cr (Ayangbenro and Babalola, 2020; Carlos Augusto da Costa and Pereira Duta, 2001). En outre, l'élimination des ions métalliques notamment les ions chromés par *Bacillus subtilis* pourrait être effectuée soit par l'adsorption du métal sur la surface cellulaire ou par la transformation chimique des ions métalliques par cette espèce (Masykuri and Setyono, 2019).

D'après la littérature, les propriétés structurales des bactéries au niveau de la paroi bactérienne, surtout la présence des polysaccharides qui sont des pompes échangeuses d'ions, peuvent fournir une multitude de groupes ioniques. Ces derniers contribuent dans la fixation et la liaison des métaux lourds, selon l'affinité et la spécificité vis-à-vis des ions (Murthy et al., 2012; Syed and Chinthala, 2015).

Finalement, nous pouvons constater que le procédé de bio-augmentation utilisant ces souches pour le traitement des effluents de lixiviats, pourrait être une bonne solution future pour éliminer le Cr, le fer, le Zn et le Ni de ces effluents avec un rendement satisfaisant et à faible coût.

III. Résultats des analyses physico-chimiques et microbiologiques du traitement du lixiviats par couplage du RSD à la colonne de filtration après bio-augmentation à l'échelle pilote

Le réacteur a été alimenté avec les 8 isolats, nous avons préparé un volume d'un litre pour chacune de ces souches. Les résultats des analyses physico-chimiques et microbiologiques des lixiviats après le traitement par le RSD durant la bio-augmentation sont présentés dans les tableaux 25 et 26.

Tableau 25: Résultats des analyses physico-chimiques des lixiviats après le traitement par le RSD après 3 jours la bio-augmentation.

	Lixiviat brut	**Lixiviat traité par RSD**	**Taux d'abattement (%)**	**Valeurs limites générales de rejet dans les eaux superficielles et souterraines (M.E.M.E.E, 2014)**
pH	7,84	7,98	-	5,5-9,5
Conductivité électrique (ms/cm)	41	33,3	18	2700
NH_4^+ (mg/l)	60	15,10	74	-
NO_3^- (mg/l)	2,74	325,79	-	-
NO_2^- (mg/l)	16,36	10,90	33	-
SO_4^{2-} (mg/l)	680	485	28	600
PO_4^{3-} (mg/l)	2,1	0,5	76	15
DCO (mg/l)	9122,22	4500	50	500
DBO_5 (mg/l)	2000	920	54	100
NTK g/l	1,17	0,21	82	40
MES (mg/l)	3540	4400	-	100

Tableau 26: Résultats des analyses physico-chimiques des lixiviats après le traitement par le RSD après un mois de bio-augmentation.

	Lixiviat brut	**Lixiviat traité par RSD**	**Taux d'abattement (%)**	**Valeurs limites générales de rejet dans les eaux superficielles et souterraines (M.E.M.E.E, 2014)**
pH	8,24	8,64	-	5,5-9,5
Conductivité électrique (ms/cm)	36,7	30,4	17	2700
NH_4^+ (mg/l)	50,1	11,7	76	-
NO_3^- (mg/l)	2,3	420,33	-	-
NO_2^- (mg/l)	10,48	34,22	-	-
SO_4^{2-} (mg/l)	548,33	156	71	600
PO_4^{3-} (mg/l)	10,26	1,13	88	15
DCO (mg/l)	8333,33	1424,24	82	500
DBO_5 (mg/l)	6200	400	93	100
NTK (g/l)	1,8	0.14	92	40
MES (mg/l)	2660	2990	-	100

Tableau 27: Résultats d'analyses microbiologiques des lixiviats après le traitement par le RSD après un mois de bio-augmentation.

	Lixiviat brut	**Lixiviat traité par RSD**
Germes totaux (UFC/mL)	7.10^6	3.10^2
Coliformes totaux (UFC/mL)	150.10^3	0
Coliformes fécaux (UFC/mL)	0	0
Streptocoques fécaux (UFC/mL)	10.10^4	6.10^3
Staphylocoques (UFC/mL)	14.10^5	4.10^4

Comme le montre les tableaux ci-dessus, nous avons une augmentation des taux d'abattement de tous les paramètres chimiques, ceci est expliquée par la performance des 8 souches que nous avons isolées, dans la biodégradation des composés carbonés, azotés et phosphatés.

Cette biodégradation a augmenté avec le temps et avec l'adaptation des 8 souches dans la cuve du RSD. Cette performance est due aussi à la concentration des matières en suspension (MES) de la liqueur mixte qui est comprise entre 9,7 et 17 g/l, ce qui a nécessité un soutirage des boues en excès de 15 litres par jour. Cette forte concentration montre que la biomasse épuratrice des boues s'est adaptée efficacement.

Le taux de l'élimination de la DCO dans notre réacteur pourrait être expliqué par la présence de *Bacillus cereus* qui a une meilleure capacité d'élimination de la DCO (Agarry, 2017; Zhao et *al*., 2009b) cette bactérie a également une capacité d'élimination des ortophosphates. (Rout et *al*., 2018). En outre, *Bacillus thuringiensis* se caractérise par sa capacité à éliminer la DBO_5 (Nunes et *al*., 2021).

En ce qui concerne la réduction des germes fécaux et pathogènes, elle pourrait s'expliquer, d'une part, par des phénomènes biologiques tels que la prédation, le parasitisme, l'antagonisme et la compétition. D'autre part, nous pouvons suggérer que cette réduction est due à l'effet de la décantation des germes présents dans les boues lors de la phase de décantation.

IV. Résultats des analyses physico-chimiques du traitement du lixiviats par couplage du RSD à la colonne de filtration après bio-augmentation

Les résultats des analyses physico-chimiques des lixiviats après traitement par le RSD couplé à la colonne de filtration après la bio-augmentation sont présentés dans le tableau 28.

Tableau 28: Résultats d'analyses physico-chimiques des lixiviats après le traitement par le RSD couplé à la colonne de filtration après bio-augmentation.

	Lixiviat brut	**Lixiviat traité par RSD**	**Lixiviat traité par le RSD et filtration**	**Taux d'abattement (%)**	**Valeurs limites générales de rejet dans les eaux superficielles et souterraines (M.E.M.E.E, 2014)**
pH	8,24	8,64	7,04	-	5,5-9,5
Conductivité électrique (µs/cm)	36700	30400	9890	73	2700
NH_4^+ (mg/l)	50,1	11,7	0,05	99	-
NO_3^- (mg/l)	2,3	420,33	32,76	-	-
NO_2^- (mg/l)	10,48	34,22	1,32	87,4	-
SO_4^{2-} (mg/l)	548,33	156	167,29	69,4	600
PO_4^{3-} (mg/l)	10,26	1,13	0,22	97,8	15
DCO (mg/l)	8333,33	1424,24	0	100	500
DBO_5 (mg/l)	6200	400	0	100	100
NTK (g/l)	1,8	0,14	0	100	40
MES (mg/l)	2660	2990	3680	-	100

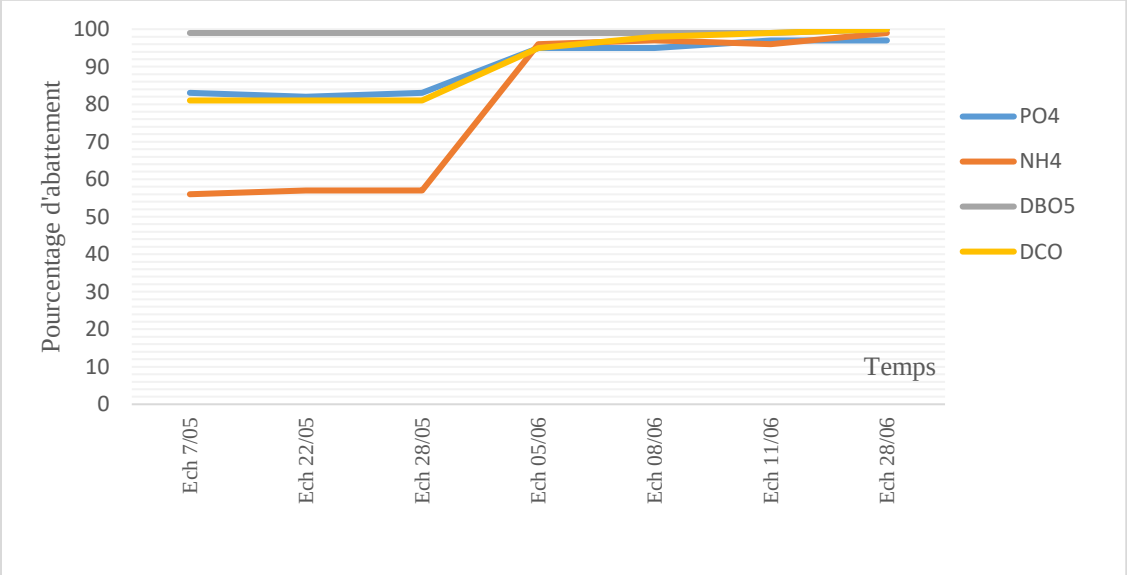


Figure 21: Evolution de l'abattement de la DCO, la DBO5, l'ammonium et le phosphate Après la bio-augmentation.

L'analyse des résultats du tableau 29 et la figure 21, montre que le taux d'abattement après la bio-augmentation à la sortie du pilote, pour la DBO_5 le taux reste 100% avant et après bio-augmentation (7 Mai). Alors que pour les autres paramètres chimiques, et principalement la DCO, l'ammonium et le phosphate, les taux d'abattement augmentent après 1 mois de la date

de bio-augmentation. Cette augmentation est de 19% pour la DCO, 43% pour l'ammonium et 14% pour le phosphate, à partir du 7 mai 2018. D'après les résultats obtenus après la bio-augmentation, nous pouvons constater que cette augmentation du taux d'élimination des paramètres chimiques dans notre SRD augmente également la durée de vie du support de filtration et son colmatage à court terme.

IV.1 Caractérisation morphologique et microscopique des souches isolées à partir des boues activées

La détermination des caractères macroscopiques des souches isolées à partir des boues activées, nous a permis de détecter 7 morphotypes différents sur milieu LB agar.

Les souches S2, S4, S5, S7 et S8 se caractérisent par une forme ronde alors que S1, S3, S6 et S9 ont une forme irrégulière. Tous les isolats se caractérisent par des colonies à une élévation plate et opaques. Le pourtour des souches est irrégulier pour S1, S4, S5, S6, S8, et S9, alors que les souches S5 et S7 ont le pourtour régulier. En ce qui concerne la surface, nous avons trouvé que tous les isolats ont des colonies lisses sauf S3, S6 et S9 qui sont caractérisées par une surface rugueuse.

L'étude microscopique nous a permis de distinguer et de classer les bactéries selon les propriétés de leurs parois, et de leurs colorations Gram. Les résultats sont représentés dans le tableau 8.

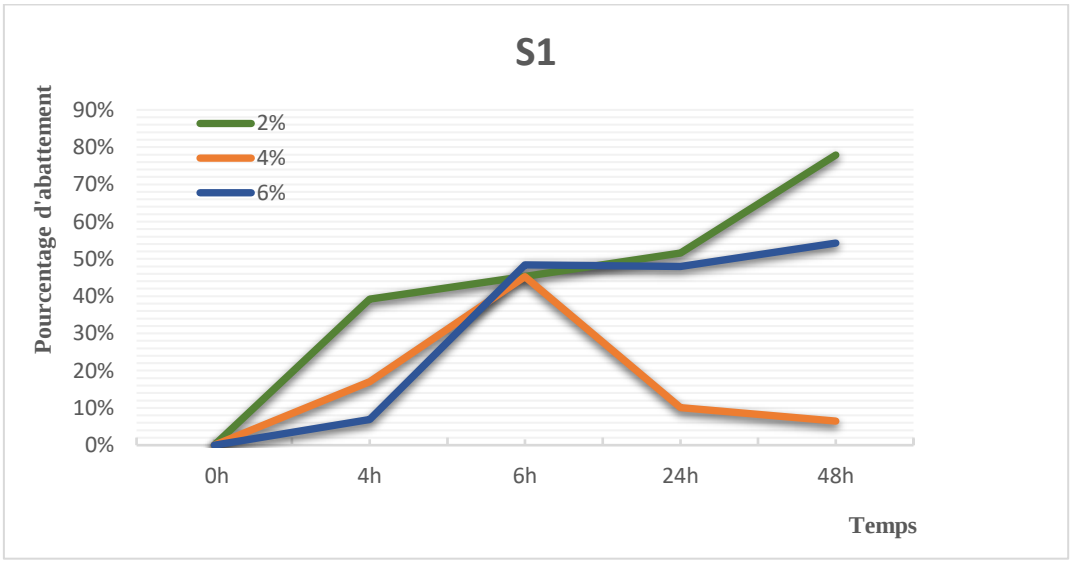
La coloration de Gram a montré que les deux souches isolées S1 et S6 avaient une forme cocci à Gram positives, alors que S4, S5, S7, S8 et S9 avaient une forme coccobacille à Gram négatives.

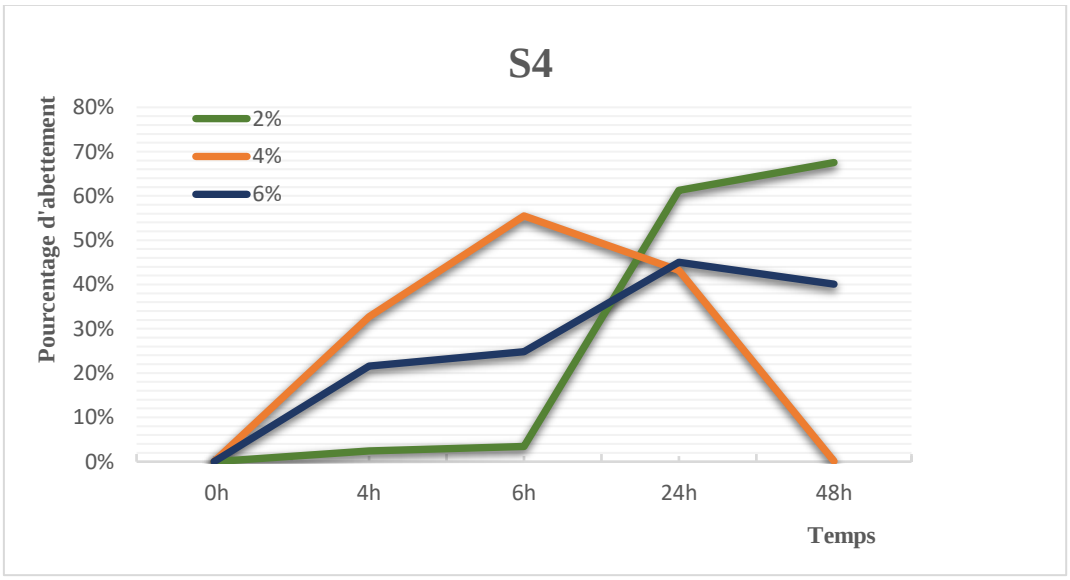
V. Traitement des lixiviats, à l'échelle de laboratoire par les souches isolées à partir des boues activées.

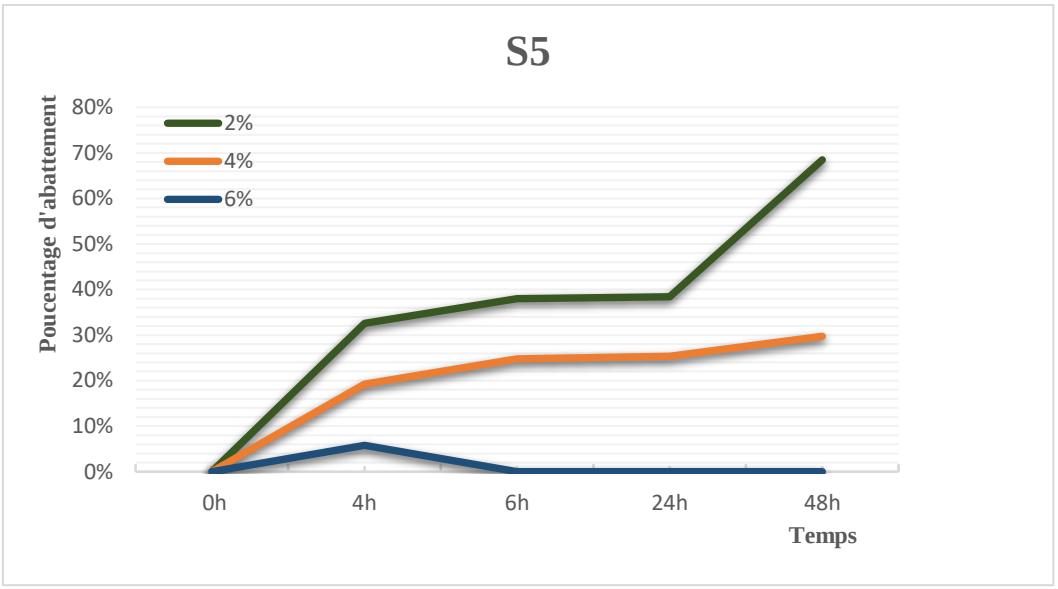
Les échantillons de lixiviats destinés à être traités par nos souches sont prélevés le mois d'avril 2019 au niveau de la décharge publique contrôlée de la ville de Fès. Ces lixiviats correspondent à des lixiviats jeunes.

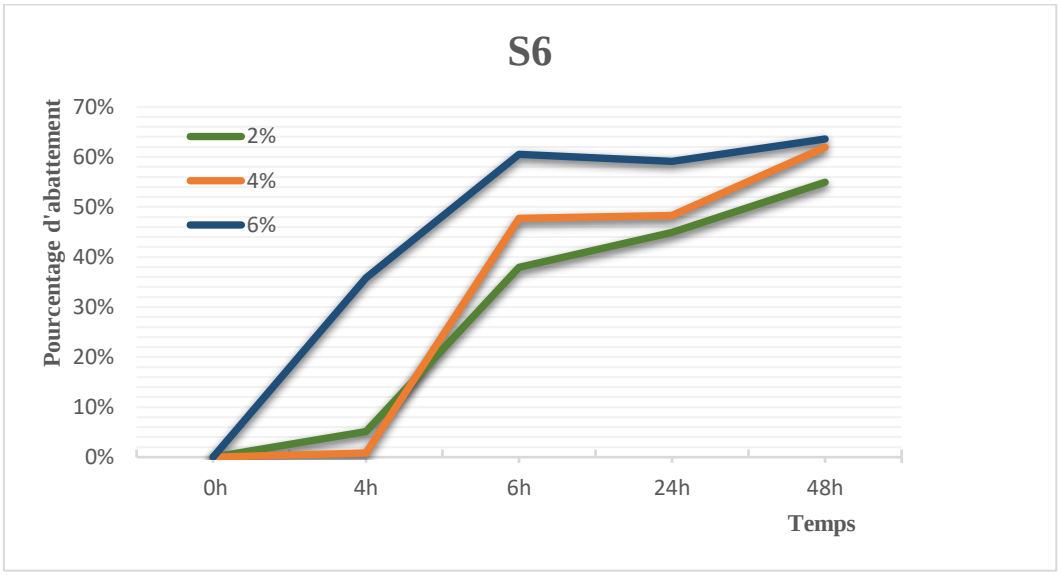
V.1 Elimination de la DCO

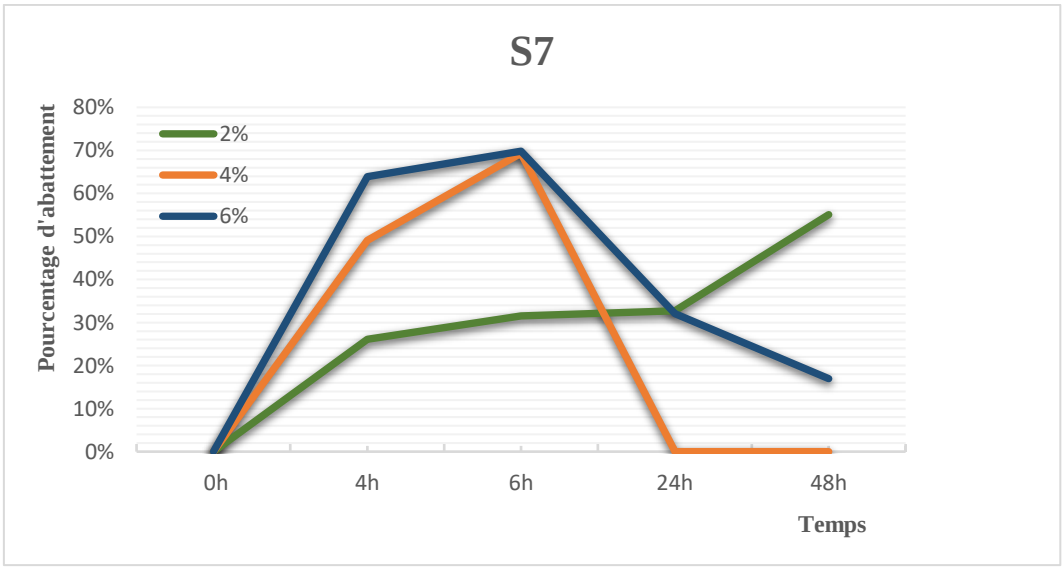
Nous avons mesuré l'évolution de l'élimination de la DCO par les 7 souches en fonction du temps à l'échelle du laboratoire. Les résultats que nous avons obtenus sont présentés dans la figure 7.






S5
Poucentage d'abattement
80%
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
2%
4%
6%
0h
4h
6h
24h
48h
Temps


S6
Pourcentage d'abattement
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
2%
4%
6%
0h
4h
6h
24h
48h
Temps


S7
Pourcentage d'abattement
80%
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
2%
4%
6%
0h
4h
6h
24h
48h
Temps

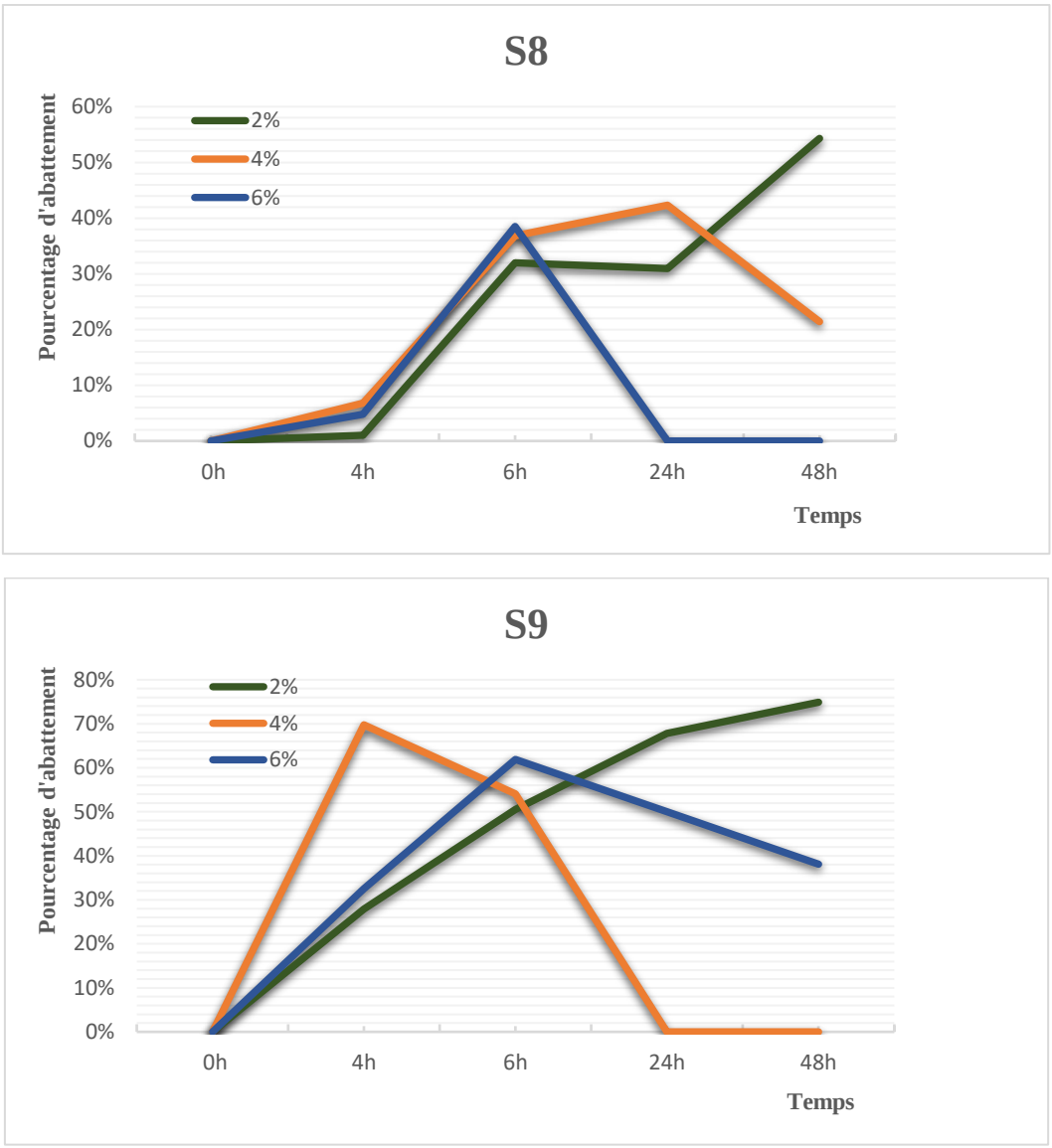


Figure 22: Taux d'abattement de la DCO avec les neuf souches bactériennes à 2%, 4% et à 6%.

Les résultats de la figure 22 indiquent que le traitement de lixiviat avec les 7 souches isolées à partir des boues activées réduit généralement la DCO. Nous remarquant que le taux d'élimination de la DCO ne correspond pas à la courbe de croissance de ces 7 isolats aux trois concentrations d'essai (2 %, 4 % et 6 %). Comme on peut le voir sur la figure, la concentration 2% représenté les meilleurs résultats par rapport à 4% et 6%.

On constate que **S1** représente le plus haut taux de dégradation de la matière organique (77%) à 2% par rapport aux autres souches étudiées, Quant aux 6 autres isolats, le taux de l'élimination

maximum est de 74% pour **S9**, **S5** 68%, 67% pour **S4**, **S5** 55%, **S2** 54%, **S7** 54% et **S8** 54% ; respectivement après la même période d'incubation (84 h).

L'étude statistique (ANOVA two way) montre que le facteur 1 (concentration microbienne) et le facteur 2 (souches) ont un effet significatif sur l'élimination de la DCO (*P < 0,0001*, pour les deux facteurs). De plus, cet effet est combiné car la valeur *P* de l'interaction entre ces deux facteurs est inférieure à 0,0001. Selon le test t, chaque concentration bactérienne possède un impact significatif sur l'élimination de la DCO.

VI. Traitement des lixiviats, à l'échelle pilote par les souches

Le réacteur a été alimenté avec les 7 isolats, nous avons préparé un volume d'un litre pour chacune de ces souches. Les résultats des analyses physico-chimiques des lixiviats après le traitement par le RSD durant la bio-augmentation sont présentés dans le tableau 29.

Tableau 29: Résultats des analyses physico-chimiques des lixiviats après le traitement avec le RSD après la bio-augmentation.

	Lixiviat brut	**Lixiviat traité par RSD Après bio-augmentation**	**Taux d'abattement après 3 jours de bio-augmentation (%)**	**Valeurs limites générales de rejet dans les eaux superficielles et souterraines (M.E.M.E.E, 2014)**
pH	8,05	7,15	-	5,5-9,5
NH_4^+ (mg/l)	65,05	1,55	97,61	-
NO_3^- (mg/l)	524,55	1,60	99	-
NO_2^- (mg/l)	22,67	1,05	95,36	-
SO_4^{2-} (mg/l)	720,95	124	82,80	600
PO_4^{3-} (mg/l)	17,36	2,20	87,73	15
DCO (mg/l)	14002	550	96,07	500
DBO_5 (mg/l)	7300	115	98,42	100
NTK (g/l)	2.5	0,7	72	-
MES (mg/l)	3250	70	97,84	100



Photo 15: les lixivats avant et après le traitement par bio-augmentation

L'analyse des résultats du tableau 29 montre que la diminution des concentrations s'explique par la performance des 7 souches que nous avons isolées, dans la biodégradation des composés carbonés, azotés et phosphatés. Cette biodégradation devrait normalement augmenter avec le temps et avec l'adaptation des 7 souches. Cette performance des 7 souches montre que cette biomasse épuratrice isolée des boues s'est bien adaptée.

Les résultats du tableau 29 montrent que la bio-augmentation nous a permis d'avoir untaux d'abattement de la DCO de (96%), la DBO5 (98,42%), la NH4 (97,61%), le PO4 (87,73%). D'après ces résultats, nous constatons que la bio-augmentation a amélioré la performance du pilote dans un temps très réduit (3 jours).

La bio-augmentation a contribué aussi à la décoloration des lixiviats, comme le montre la photo 15, dans l'erlenmeyer, à gauche le lixiviat brut et à droite le lixiviat traité par RSD. Ceci est dû à la réduction de la matière organique dans le lixiviat.

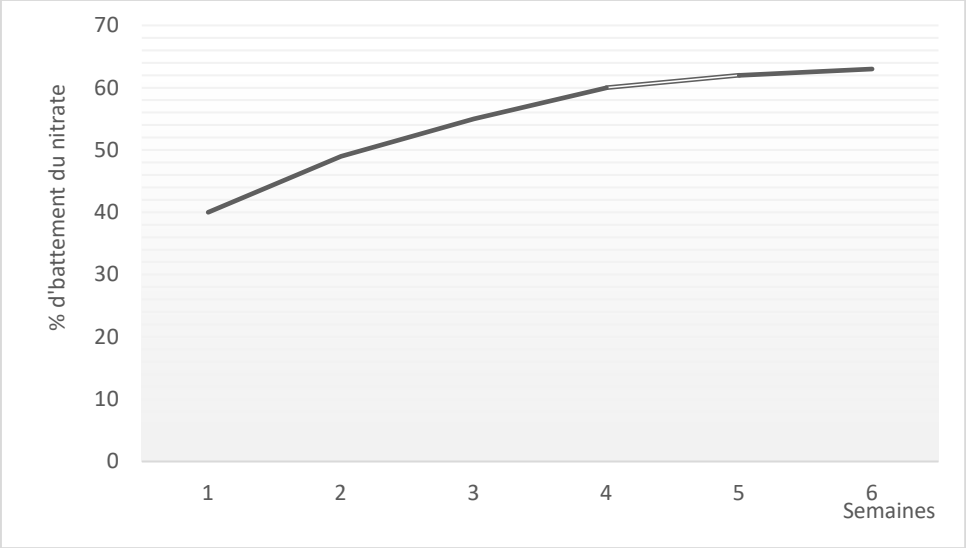


Figure 23: le taux de réduction des nitrates dans le réacteur après la bio-augmentation

D'après le tableau 29, nous pouvons voir qu'après l'injection des isolats dans notre réacteur, une dénitrification s'est produite, sachant que ce processus consiste en des conditions anaérobies (Münch et *al*., 1996), c'est pourquoi nous avons suivi le taux de dégradation des nitrates au cours du temps (figure 23). Cette diminution de la concentration en nitrate au fil du temps pourrait être expliquée par le fait que les isolats ont commencé à s'adapter dans notre réacteur.

Des études similaires ont été menées sur l'isolement des souches hétérotrophes de nitrification et dénitrification aérobie qui ont été isolées du système de traitement des lixiviats de la décharge. Ces micro-organismes se sont avérés efficaces pour éliminer les nitrates dans des conditions aérobies (Chen and Ni, 2011). Donc, La dénitrification peut également se produire dans des conditions aérobies. En outre, (Elkarrach et *al*., 2021) ont réussi à éliminer les nitrates de l'effluent de la tannerie par bio-augmentation avec l'utilisation des souches bactériennes.

La plupart des dénitrificateurs aérobies sont des micro-organismes hétérotrophes (Bernat and Wojnowska-Baryła, 2007). D'après (Rajta et *al*., 2020), les dénitrifiants hétérotrophes utilisent des sources de carbone organique comme donneurs d'électrons, afin de réaliser le processus de dénitrification. Ce processus est réalisé avec succès dans les eaux usées présentant un rapport C/N élevé.

La dénitrification aérobie a suscité une grande attention car elle remet en cause la théorie traditionnelle selon laquelle la dénitrification ne peut se produire que dans des conditions

anaérobies, ainsi que pour ses avantages uniques, tels que la possibilité de nitrification et de dénitrification simultanées dans un seul réacteur aéré, cela signifie une réduction importante des coûts, en termes d'investissement et d'exploitation (Merzouki, 2001; Bernat and Wojnowska-Baryła, 2007; Yang et *al*., 2020)

Les résultats obtenus après bio-augmentation nous ont conduit à réaliser une étude métagénomique de notre boue activée, afin d'avoir une vue générale de la communauté microbienne de ces boues, et de leurs rôles dans le traitement des lixiviats, c'est l'objectif du chapitre suivant.

Conclusion

L'évaluation des paramètres physico-chimiques et microbiologiques de lixiviat brut, a montré que cet effluent ne répond pas à la norme de rejet marocaine en termes de : la DCO, la DBO_5 les MES, NTK, l'ammonium, l'orthophosphate et le sulfate. Ainsi que les germes recherchés, représentent les paramètres les plus fortement chargés, ce qui montre que leur rejet direct dans l'environnement sans aucun traitement préalable engendre des risques pour l'environnement et aussi pour la santé humaine. C'est pour cela que nous avons isolé et sélectionné des isolats bactériens qui ont une action sur la charge polluante du lixiviat de la décharge contrôlée de la ville de Fès, afin de les utiliser dans le traitement par bio-augmentation à l'échelle pilote. La bio-augmentation en trois jours nous a permis d'aboutir à des taux d'abattement satisfaisants de la DCO (96,7%), la DBO5 (98,42%), NH4 (97 %), NTK (72%) et PO_4 (87,7%). D'après ces résultats nous constatons que la bio-augmentation a amélioré la performance à l'échelle pilote dans un temps très réduit.

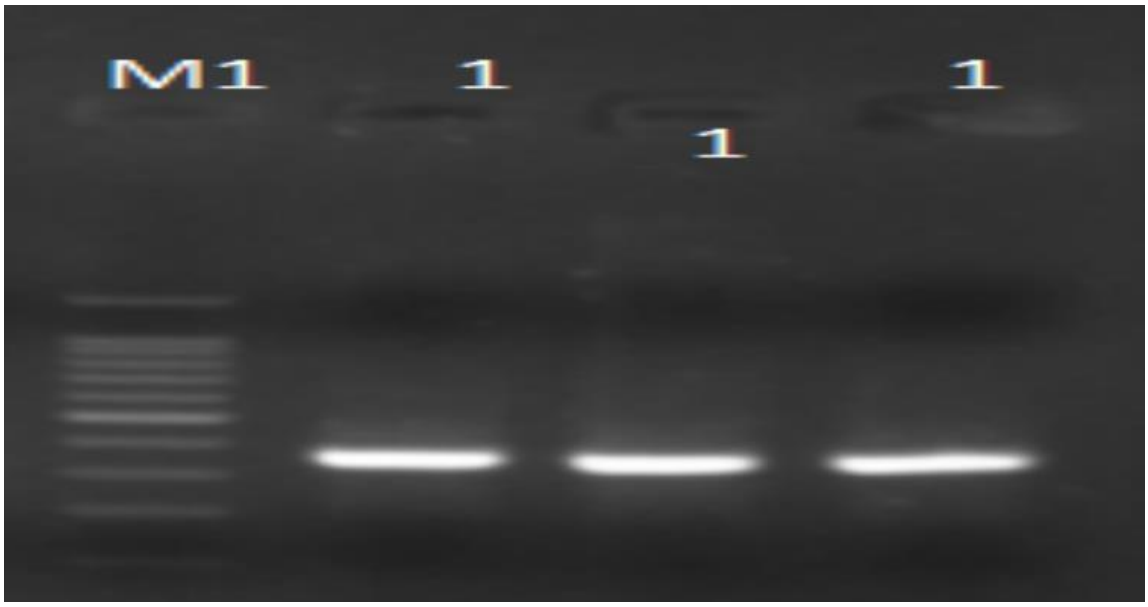
Chapitre IV : La métagénomique

I. Extraction d'ADN génomique de la boue

Le contrôle de qualité (CQ) de l'ADN est le processus d'évaluation de la quantité, de la pureté et de l'intégrité de l'ADN génomique. Après avoir effectué la réaction PCR, une migration sur un gel d'agarose à 1% a été réalisée pour visualiser l'ADN amplifié. Les résultats de l'électrophorèse sont présentés dans la figure 24.

D'après la figure, l'amplification de l'ADN extrait a été bien réalisé, indiquée par le chiffre 1 sur trois répétitions en présence d'un marqueur de taille M1 **(A).** D'autre part, dans le but d'avoir des informations plus précises et fiables sur notre ADN, nous avons utilisé le système Agilent 5400 Fragment Analyzer qui permet de séparer des fragments d'ADN de taille proche, ce qui donne une meilleure idée sur la taille des échantillons d'acide nucléique **(B)** (Hale et *al*., 2020)**.**

(A)



(B)

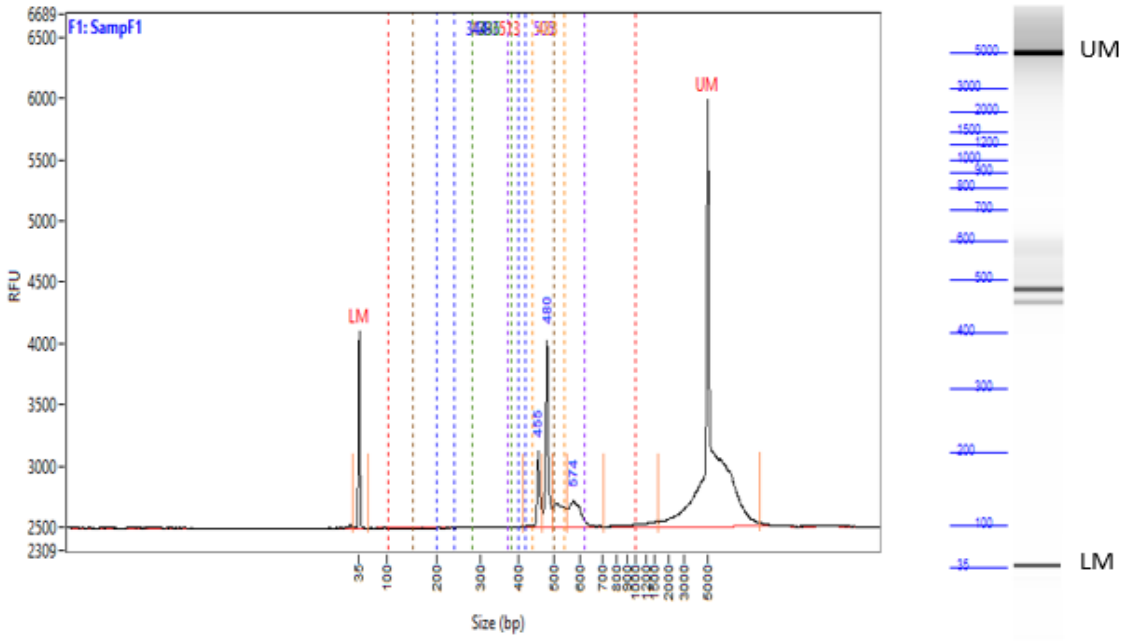


Figure 24: Résultats représentatifs de la migration de l'ADN sur gel d'agarose (A) et par le système Fragment Analyzer (B).

La figure 23 représente la taille des fragments en paire de bases (pb) sur l'axe X et les unités de fluorescence relative (RFU) sur l'axe Y, à droite du graphique se trouve une piste de gel simulée. Les résultats montrent que notre ADN a une taille de fragment de 480 pb, Le marqueur inférieur (LM) a 35 pb et le marqueur supérieur (UM) a 5000 pb, sont des marqueurs internes qui sont ajoutés pour assurer un dimensionnement correct de notre échantillon.

II. Etude de la composition des communautés microbienne colonisant le réacteur séquentiel discontinu

Des études taxonomiques ont été réalisées pour obtenir une vue d'ensemble de la structure de la diversité microbienne de notre boue activée, telles que la distribution des OTUs et le pourcentage de dominance au niveau du phylum pour chaque domaine (tableau 30).

Tableau 30: la composition de la communauté microbienne de la boue activée

	Bactéries	***Eucaryotes***	***Champignons***
Nombre Total de séquences	80053	131898	611
Nombre d'OTU	523	34	28
Nombre de phyla	29	5	2
Pourcentage des OTUs	89%	6%	5%

Le séquençage de l'échantillon de la boue activée provenant du réacteur séquentiel discontinu a produit au total 212 562 séquences. Pour la banque *Bacteria*, le nombre observé des OTUs est de 523, obtenu avec environ 80053 séquences. Ce groupe est le plus diversifié avec un pourcentage de 89% et représenté par 29 phyla, suivi par la banque des *Eucaryotes* avec un pourcentage de 6% et représenté par 5 phyla, dont 3% représentés par des champignons avec 2 phyla.

II.1 Analyses de la diversité Alpha

Afin d'obtenir une vue globale de la diversité microbienne contenue dans les différentes banques, plusieurs paramètres ont été mesurés, à savoir : l'indice de chao, ACE, l'indice de Shannon et de Simspon, la formule de Good et également les courbes de raréfaction.

Tableau 31: Comparaison des estimateurs de diversité pour les *Bactérie**s,** Archeae, Eucaryotes* et *les champignons.*

	Simpson	**Simpson _lci**	**Simpson _hci**	**Chao**	**Chao _lci**	**Chao _hci**	**Shannon**	**ace**	**ace_lci**	**ace_hci**	**Shannon _lci**	**Shannon _hci**	**Good coverage**
Bactéries	2962	2339.91	4034.94	4807.56	3957.27	5897.62	6.78	5137.38	4152.29	6424.75	6.73	6.82	0.23%
Eucaryotes	17.75	11.54	38.44	133.00	65.12	344.32	3.08	342.383	254.175	465.768	2.81	3.35	60%
Champignons	7.78	5.56	12.93	138.50	72.14	330.16	2.75	302.296	190.707	494.899	2.44	3.05	68%

***hci : l'intervalle de confiance élevé**
***Ici : l'intervalle de confiance faible**

La banque *Bacteria* qui représente le groupe le plus dominant, le nombre observé d'OTUs est de 523 (Tableau 31) est loin d'atteindre le nombre total estimée d'OTUs 4807 (l'indice de chao). Ceci montre que la diversité n'a pas été échantillonnée de manière exhaustive et que davantage de séquences devraient être obtenues pour couvrir la diversité. Et c'est pareil pour *les Eucaryotes* et *les champignons*, nous remarquons que le nombre d'OTU observé est loin du nombre d'OTUs estimé. Par ailleurs, les bactéries représentent la diversité la plus grande des communautés. Cela est confirmé par l'indice de Shannon, par la suite vient *les Eucaryote* dont *les champignons* se caractérisent par un indice de Shannon de 2,75. Cependant, l'indice simpson, les valeurs varient entre 2339-4034, toujours les bactéries se caractérise par l'indice le plus élevés. L'indice de Simpson donne plus de poids aux espèces abondantes qu'aux espèces rares, le fait de rajouter des espèces rares dans l'échantillon ne modifie pas la valeur de l'indice de diversité (Bouchez et *al*., 2010).

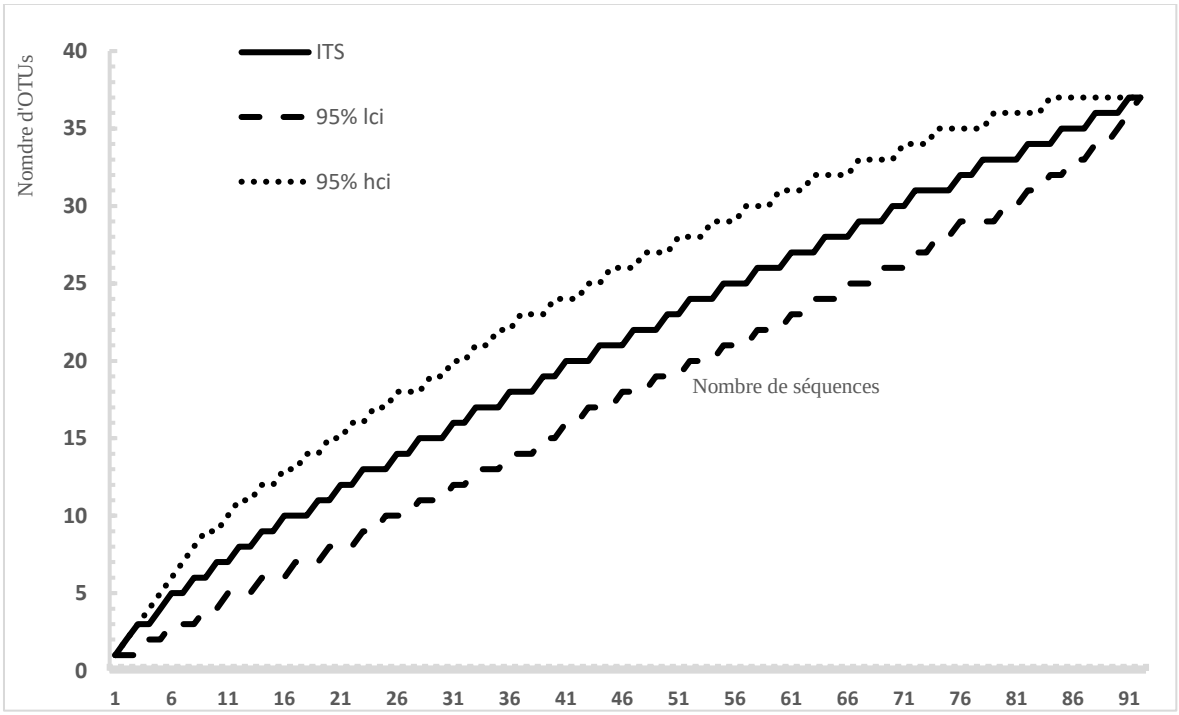


Figure 25: Courbe de la raréfaction des *champignons*

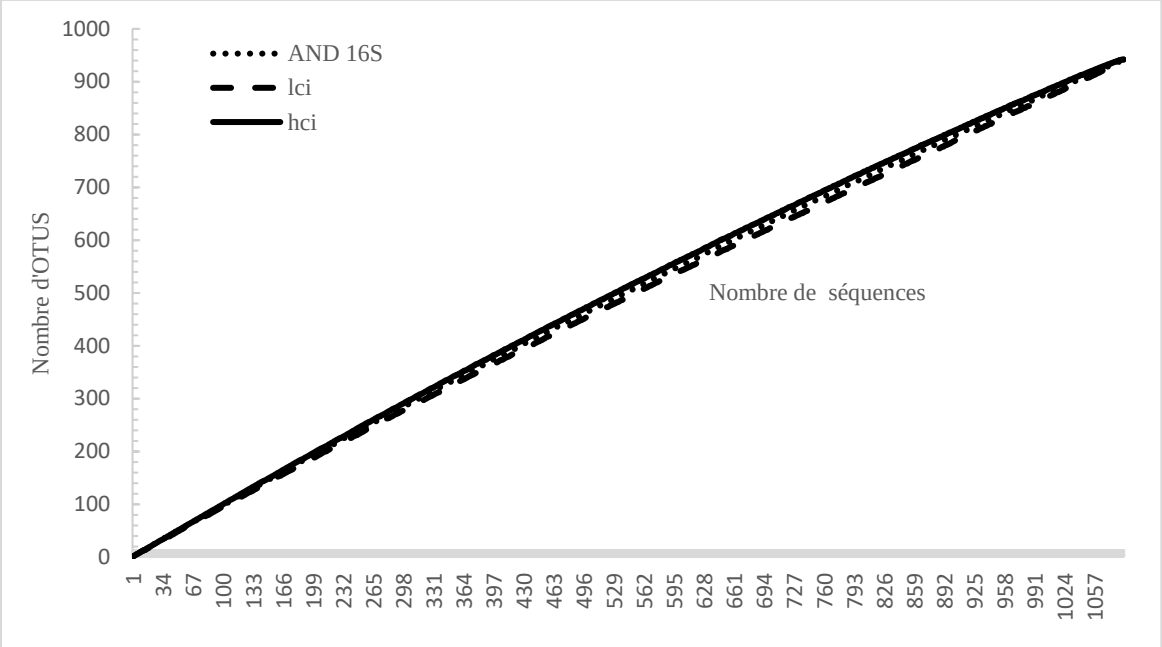


Figure 26: Courbe de la raréfaction des *Bactéries*

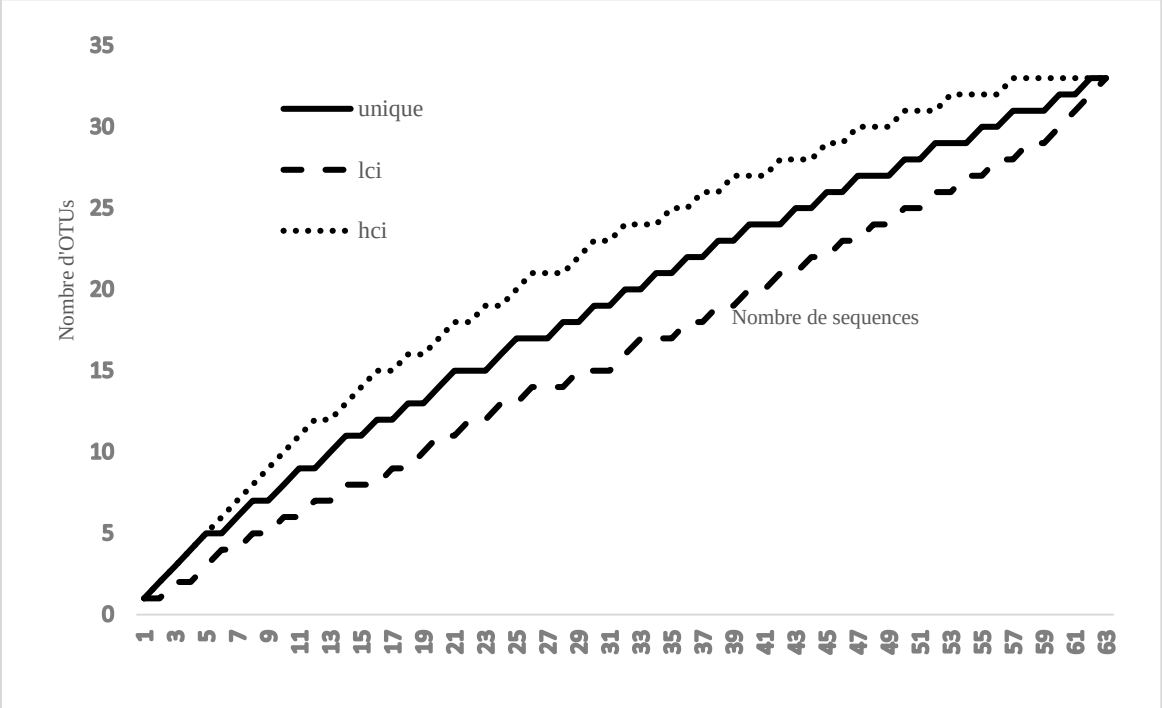


Figure 27: Courbe de la raréfaction des *Eucaryotes*

L'axe vertical correspond au nombre d'unités taxonomiques opérationnelles (OTU) et l'axe horizontal au nombre de séquences avec hci et lci qui est l'intervalle de confiance à 95%. La

courbe de raréfaction bactérienne indique que la population de séquences bactériennes présente la diversité la plus grande par rapport aux autres séquences *des Eucaryotes* et *les Champignons*, cela montre qu'il existe de nombreuses espèces non détectées et davantage de clones doivent être séquencés

La même allure a été observée chez *les Eucaryotes* et du même pour *les Champignons*, la courbe n'a pas atteint le palier de couverture complet de la diversité et du même, davantage de clones doivent être séquencés. Ces résultats ont été confirmés par les paramètres de diversité à savoir, par l'indice de Shannon, l'indice de Simpson et les estimateurs de la richesse en espèces Chao et Ace.

III. Le groupe *Bacteria*

Après le regroupement des séquences de la banque *Bacteria* de notre boue en se basant sur 97% de similarité il apparait qu'il y a 29 phyla. Les deux figures 28 et 29 représentent le pourcentage d'abondance des phyla en fonction des OTUs et des séquences.

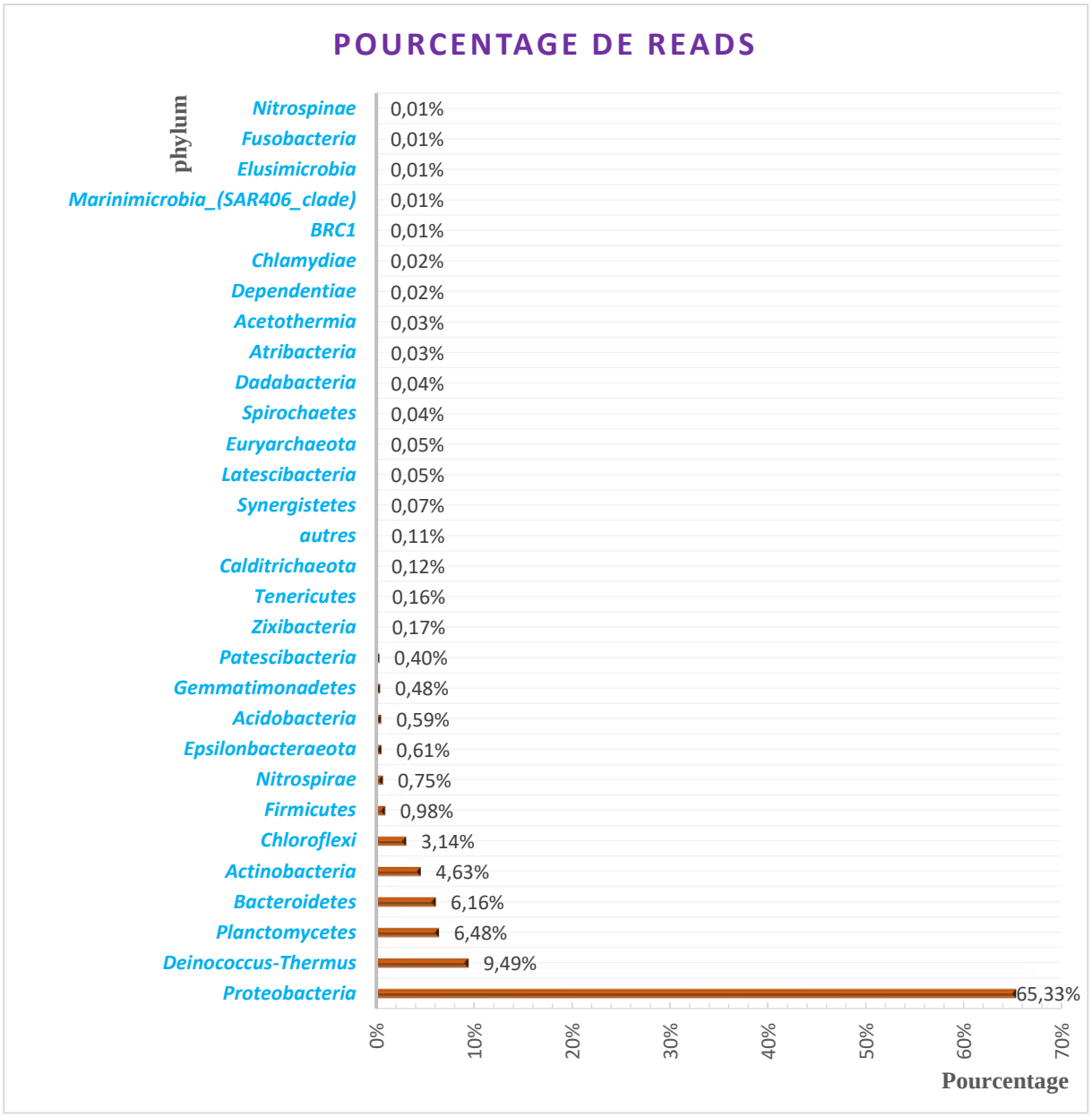


Figure 28: Abondance des phyla *bactériens* en pourcentage de la totalité des séquences obtenues

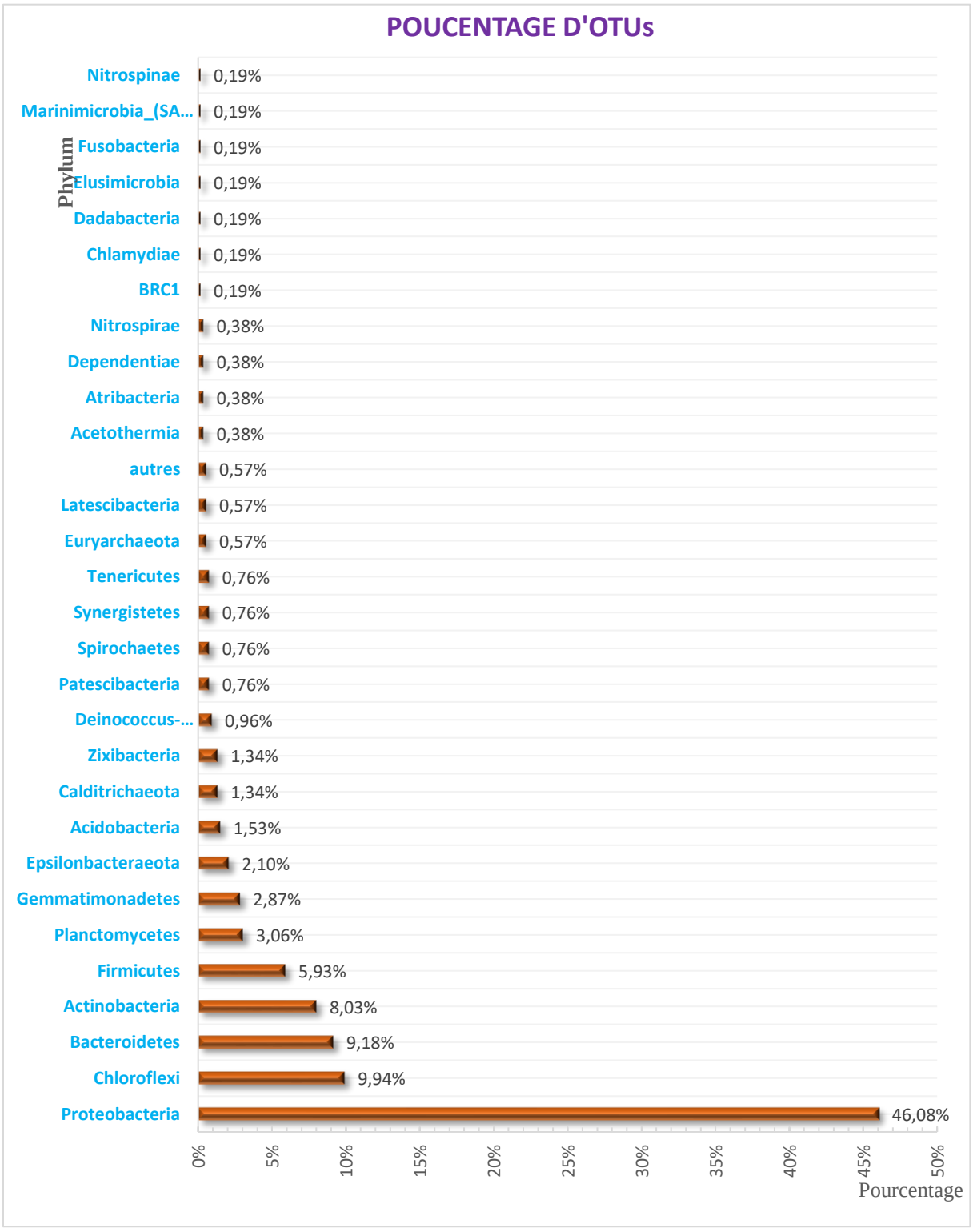


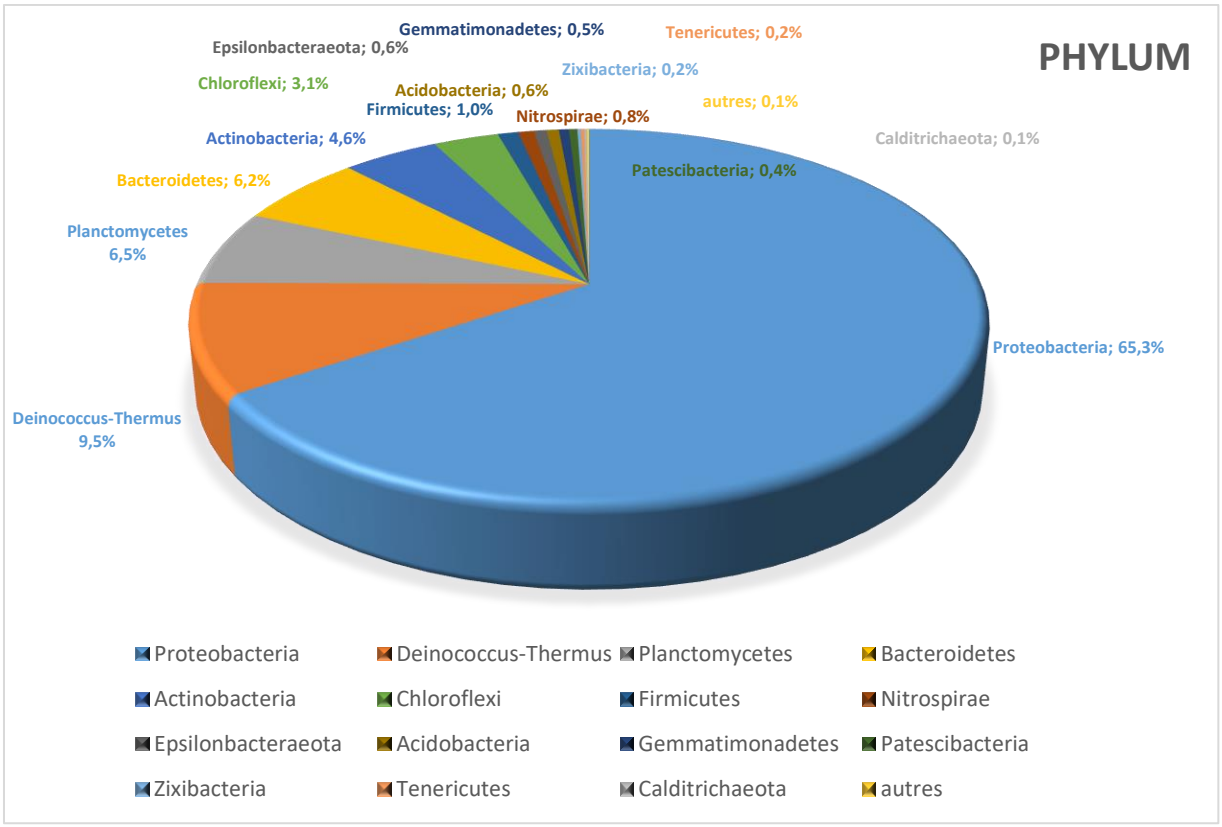
Figure 29: Abondance des phyla *bactériens* en pourcentage d'OTUs

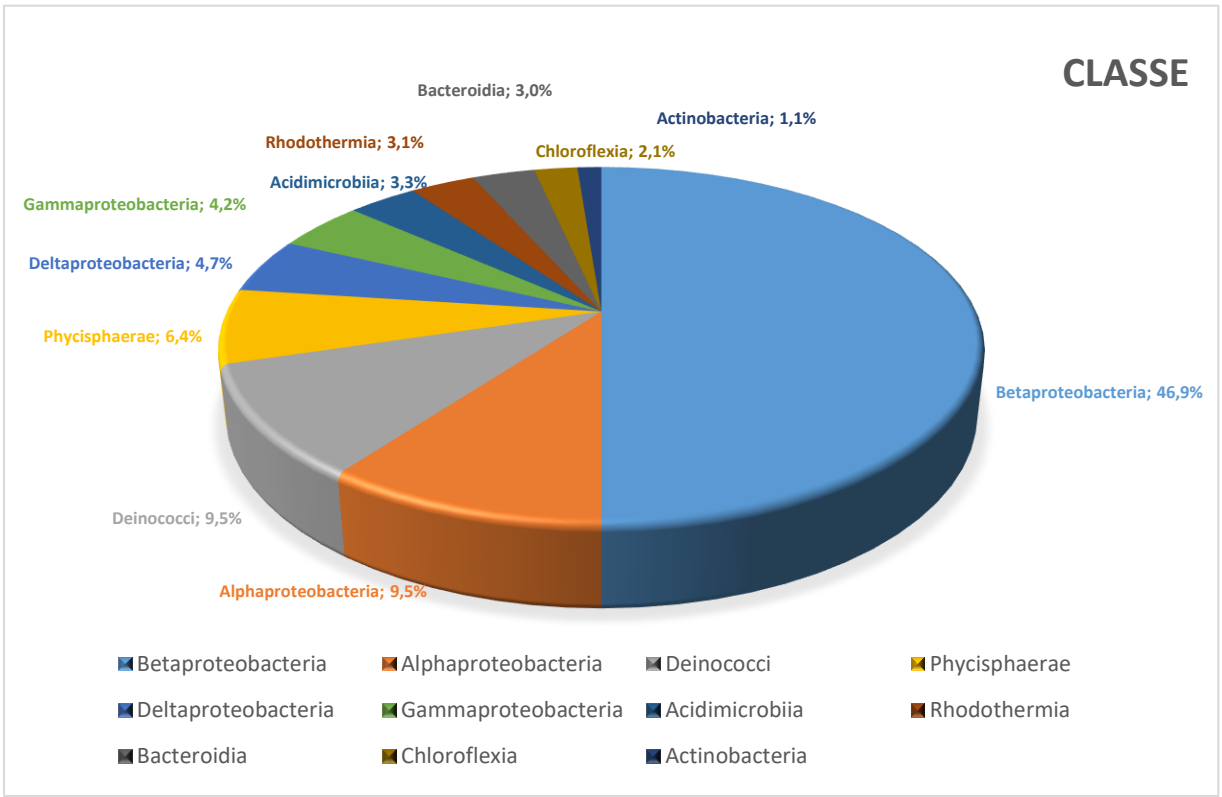
La banque *Bacteria* de notre boue est dominée par des séquences affiliées au phylum des *Protéobactéries* avec un pourcentage de 65% des séquences et 46% de l'ensemble des OTUs.

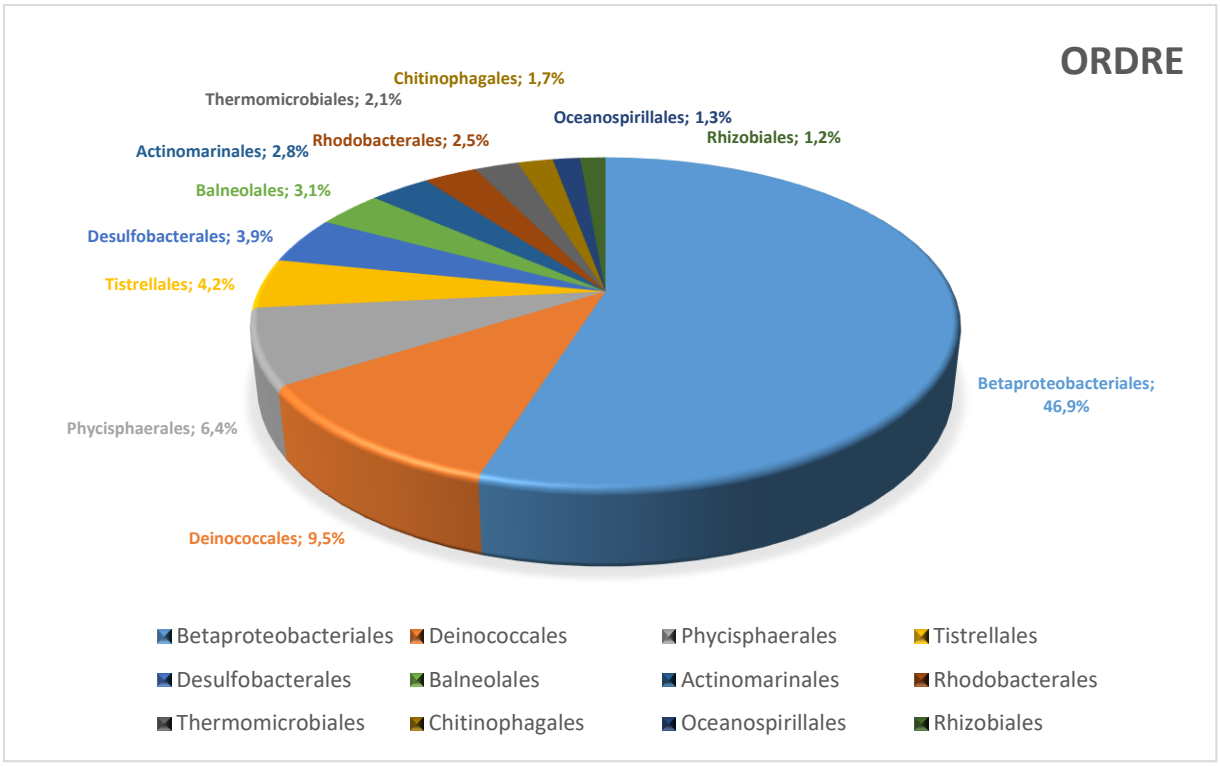
Le deuxième groupe en termes d'abondance est celui des *Deinococcus-Thermus* avec un pourcentage de 9,49 % des séquences. Par la suite, viennent les deux groupes *Planctomycetes* et *Bacteroidetes* avec un pourcentage de dominance respectivement 6,48 % et 6,16 % en termes de nombre des séquences, et représentent respectivement 3,06 % et 9,18 % concernant le pourcentage des OTU's. Puis, viens Le phylum des *Actinobacteria* qui représente 4,63% de la diversité totale et 8,03% de l'abondance totale. Les *Chloroflexi* ne représentent que 3,14 % de la diversité totale, alors que 0,98 % pour *Firmicutes* et 0,75% pour les *Nitrospirae*, tandis que les *Epsilonbacteraeota* et *Acidobacteria* représentent respectivement 0,61 % et 0,59 % de la diversité et *les Gemmatimonadetes* représentés par 0,48%. *Patescibacteria* et *Zixibacteria, Tenericutes* représentent respectivement 0,16%, 0,12%, 0,11% de la diversité totale.

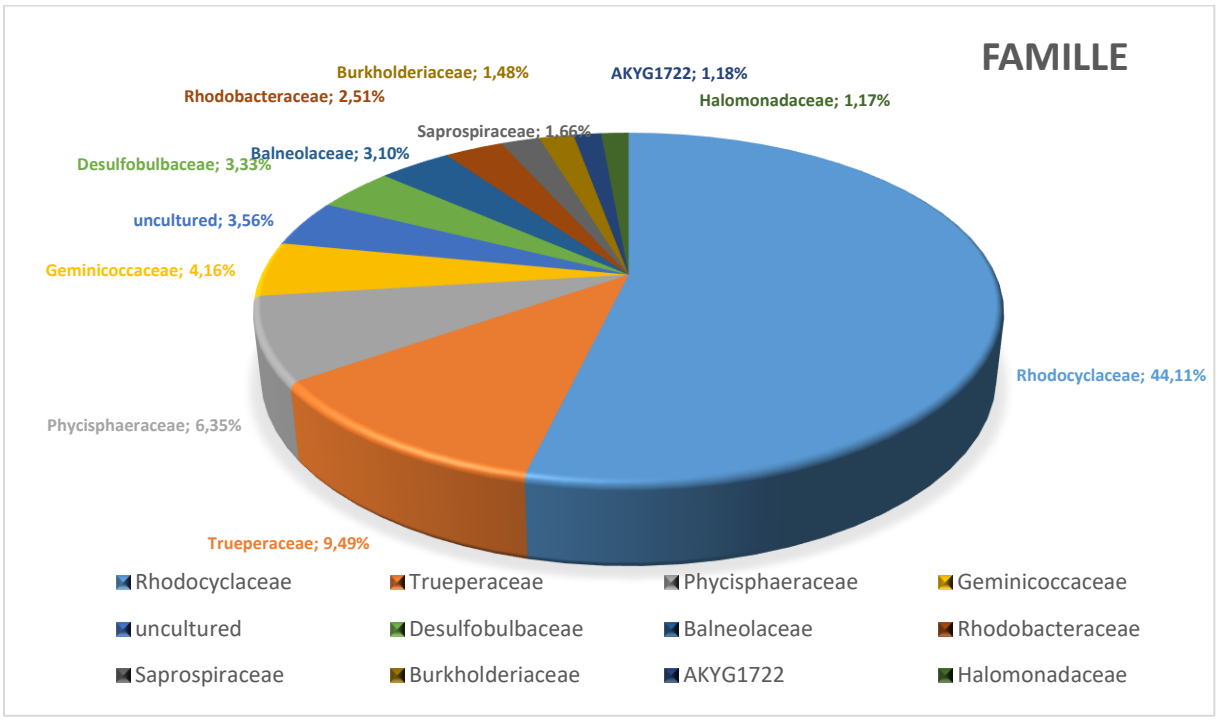
D'autre groupes minoritaires dans notre bioréacteur sont représentées par les phyla : *Patescibacteria, Zixibacteria, Tenericutes, Calditrichaeota, Synergistetes, Latescibacteria, Euryarchaeota, Spirochaetes, Dadabacteria, Atribacteria, Acetothermia, Dependentiae, Chlamydiae, BRC1, Marinimicrobia (SAR406_clade), Elusimicrobia, Fusobacteria, Nitrospinae*, qui représentent un total de 0,35% de la diversité totale.

Selon les résultats de l'annotation taxonomique (Figures 28 et 29), nous avons sélectionné les principaux taxons de chaque groupe à chaque rang taxonomique (Phylum, Classe, Ordre, Famille, Genre) pour former l'histogramme de distribution de l'abondance relative des taxons, afin de voir visuellement les taxons avec leur proportion dans les différents niveaux de classification (figure 30).


PHYLUM
Gemmatimonadetes; 0,5%
Tenericutes; 0,2%
Epsilonbacteraeota; 0,6%
Zixibacteria; 0,2%
Chloroflexi; 3,1%
Acidobacteria; 0,6%
autres; 0,1%
Firmicutes; 1,0%
Nitrospirae; 0,8%
Actinobacteria; 4,6%
Calditrichaeota; 0,1%
Patescibacteria; 0,4%
Bacteroidetes; 6,2%
Planctomycetes 6,5%
Proteobacteria; 65,3%
Deinococcus-Thermus 9,5%
Proteobacteria
Deinococcus-Thermus
Planctomycetes
Bacteroidetes
Actinobacteria
Chloroflexi
Firmicutes
Nitrospirae
Epsilonbacteraeota
Acidobacteria
Gemmatimonadetes
Patescibacteria
Zixibacteria
Tenericutes
Calditrichaeota
autres


CLASSE
Bacteroidia; 3,0%
Actinobacteria; 1,1%
Rhodothermia; 3,1%
Chloroflexia; 2,1%
Acidimicrobiia; 3,3%
Gammaproteobacteria; 4,2%
Deltaproteobacteria; 4,7%
Phycisphaerae; 6,4%
Betaproteobacteria; 46,9%
Deinococci; 9,5%
Alphaproteobacteria; 9,5%
Betaproteobacteria
Alphaproteobacteria
Deinococci
Phycisphaerae
Deltaproteobacteria
Gammaproteobacteria
Acidimicrobiia
Rhodothermia
Bacteroidia
Chloroflexia
Actinobacteria


ORDRE
Chitinophagales; 1,7%
Thermomicrobiales; 2,1%
Oceanospirillales; 1,3%
Rhizobiales; 1,2%
Actinomarinales; 2,8%
Rhodobacterales; 2,5%
Balneolales; 3,1%
Desulfobacterales; 3,9%
Tistrellales; 4,2%
Betaproteobacteriales; 46,9%
Phycisphaerales; 6,4%
Deinococcales; 9,5%
Betaproteobacteriales
Deinococcales
Phycisphaerales
Tistrellales
Desulfobacterales
Balneolales
Actinomarinales
Rhodobacterales
Thermomicrobiales
Chitinophagales
Oceanospirillales
Rhizobiales


FAMILLE
Burkholderiaceae; 1,48%
AKYG1722; 1,18%
Rhodobacteraceae; 2,51%
Halomonadaceae; 1,17%
Saprospiraceae; 1,66%
Balneolaceae; 3,10%
Desulfobulbaceae; 3,33%
uncultured; 3,56%
Geminicoccaceae; 4,16%
Rhodocyclaceae; 44,11%
Phycisphaeraceae; 6,35%
Trueperaceae; 9,49%
Rhodocyclaceae
Trueperaceae
Phycisphaeraceae
Geminicoccaceae
uncultured
Desulfobulbaceae
Balneolaceae
Rhodobacteraceae
Saprospiraceae
Burkholderiaceae
AKYG1722
Halomonadaceae

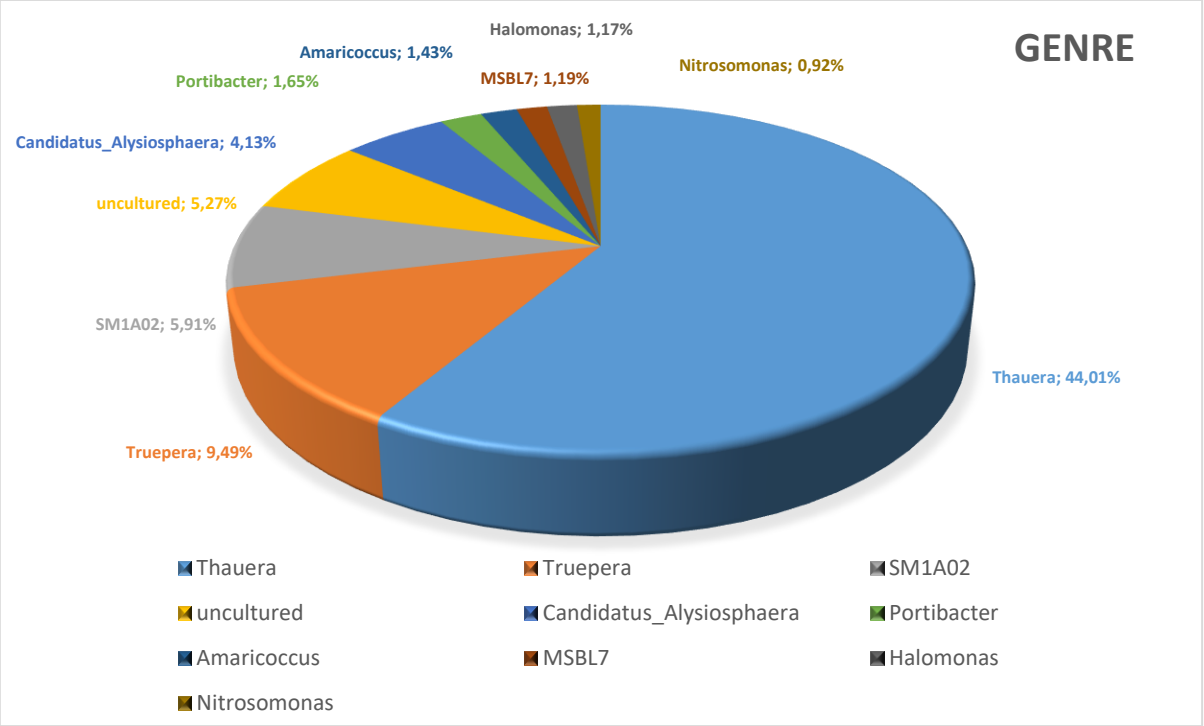


Figure 30: les principaux taxons à chaque rang taxonomique (Phylum, Classe, Ordre, Famille, Genre)

III.1 Le phylum des *Proteobacteria*

Le nom *Proteobacteria* a été proposé pour la première fois par Stackebrandt et al. en 1988 (G. Rizzatti, L. R. Lopetuso, G. Gibiino, C. Binda, 2020) sont des bactéries à Gram négatif , avec une taille qui varie entre 0,2 – 10 µm de long (LibreTexts, 2021), caractérisées par une morphologie variante bâtonnets, cocci, des bactéries courbes, spirales, annulaires, filamenteuses et gainées, la plupart des *Proteobacteria* soient mobiles avec des flagelles péritriches ou polaires (Mukhopadhya et al., 2012). Actuellement, ce groupe est caractérisé par six classes Alphaproteobacteria, suivie par Deltaproteobacteria, Betaproteobacteria, Gammaproteobacteria, Epsilon et Zeta-proteobacteria (Verma and Melcher, 2012). Ces bactéries représentent un nombre d'OTUs de 241 et 52296 séquences, appartiennent à quatre classes: *Betaproteobacteria, Alphaproteobacteria, Deltaproteobacteria,* et *Gammaproteobacteria.*

III.1.1 *Betaproteobacteria*

Les membres de la classe des *Betaprotéobactéries* arrivent en première position avec 8 OTUs et 37531 séquences. Ces OTUs se répartissent parmi les genres *Thauera, Nitrosomonas, Delftia,*

Limnobacter, Methylotenera, Comamonas, Thiobacillus, Azoarcus, Herminiimonas, Alcaligenes, Vogesella, Aquabacterium, Lautropia.

Ces bactéries sont parmi les procaryotes les plus nombreux dans les procédés de traitement biologique des eaux usées (domestiques et industrielles) en conditions aérobies (Felföldi et al., 2017) et connus aussi pour **leur rôle de nitrification et de dénitrification** des lixiviats de la décharge dans les bioréacteurs (Gabarró et *al*., 2013; Ittisupornrat et *al*., 2021; Jurczyk et *al*., 2020).

III.1.2 *Alphaproteobacteria*

Les Alphaprotéobactéries se placent en deuxième position avec 78 OTUs et 7641 séquences, dont 23 OTUs appartiennent à des micro-organismes non cultivés. La classe des *Alphaproteobacteria* est diversifiée et elle est représentée par 12 ordres, les plus abondants sont *Rhizobiales, Rhodobacterales* et *Caulobacterales.*

Dix OTUs sont affiliées à des micro-organismes non cultivés au sein de l'ordre des *Rhizobiales* et 21 OTUs appartiennent à des micro-organismes cultivés. *Shinella* représente le genre le plus dominant dans l'ordre de *Rhizobiales*, retrouvé dans les réacteurs de boue activée pour le traitement des eaux usées, et aussi dans le sol (Gao et *al*., 2022).

L'ordre des *Rhodobacterales* représenté par 16 OTUs affiliées à *Amaricoccus* et *Rhodobacter*. *Amaricoccus* est retrouvé dans les boues activées de la station d'épuration des eaux usées domestiques (Maszenan et *al*., 1997) et qui se caractérise par la capacité de dégrader la matière organique dans les eaux usées (Wang et *al*., 2021). En outre, *Rhodobacter* est connu par la capacité de dénitrification des eaux usées (Hiraishi et *al*., 1995).

L'ordre des *Caulobacterales* représentés par deux OTUs qui sont affiliées à des micro-organismes non cultivés et cinq OTUs cultivés affilées à *Brevundimonas* qui sont des bactéries très répandues dans la nature et qui sont également liées à des rares cas d'infections humaines (Liu et *al*., 2021).

III.1.3 *Gammaproteobacteria*

Les Gammaproteobacteries, sont représentées par 84 OTUs dont 8 sont affiliées à des micro-organismes non cultivés et 40910 séquencés, *les gammaproteobacteria* sont gram-négatif et qui

ont des propriétés très divergentes : certaines sont aérobies, d'autres non ; certaines sont des bâtonnets, d'autres des cocci. Certaines ont une courbe courte, d'autres sont en forme de spirale ; certaines cellules sont petites, d'autres grandes (Berman, 2012; Williams et *al*., 2010), qui comprennent 38 genres, *Halomonas, Pseudomonas, Shewanella, Idiomarina, Aliidiomarina* sont les plus dominants. A travers les études réalisées, il apparait que *Halomonas* sont des bactéries efficaces pour l'élimination de l'ammonium (Sangnoi et *al*., 2017). *Pseudomonas* et *Shewanella* ont une capacité de l'élimination des métaux lourds (Hussein et al., 2004; Kheirabadi et *al*., 2020) Idiomarina est connu par son rôle dans l'élimination du phénol (Zare et *al*., 2019) et *Aliidiomarina* est reconnu par la contribution dans la dénitrification (Chen et *al*., 2018).

III.1.4 *Deltaproteobacteria*

La classe des *Deltaproteobacteria* se place en quatrième position, 79 OTUs et 3745 séquences dont 26 OTU affiliées à des microorganismes non encore cultivés. Selon la littérature les *deltaprotéobactéries* sont répandues dans les milieux aquatiques de subsurface (Deja-Sikora et *al*., 2019) et qui sont connus comme des réducteurs de sulfate (Matturro et *al*., 2017). Cette classe comprend 12 ordres, dont les *Desulfobacterales* sont les plus dominants avec 49 OTUs et 3189 séquences et qui sont affiliées à *Desulfocapsa sulfexigens, Desulfobacteraceae bacterium enrichment culture clone MS_ANT_U12,* Ces bactéries sont connues comme étant des réducteurs de sulfate dans le RSD pour le traitement des eaux usées (Suárez-Suárez et *al*., 2011; Van Den Brand et *al*., 2016).

III.1.5 Phylum *Deinococcus-Thermus*

Le phylum *Deinococcus-Thermus* vient en deuxième position, avec 7606 séquences et 5 OTUs. *Deinococcus-Thermus* sont strictement aérobies, isolés à partir des boues activées, du compost et du sol (Im et *al*., 2008). Présenté par un seul ordre *Deinococcales*, affilé à *Truepera.* D'après la littérature, *Truepera* est connu par son efficacité dans l'élimination de la DCO des eaux usées (Shan et *al*., 2017).

III.2 Phylum *Planctomycetes*

Un total de 16 OTUs et 5184 séquences ont été affiliées au group *Planctomycetes*, 12 OTUs appartiennent à des bactéries non encore cultivées.

Les *Planctomycètes* sont largement distribués dans les environnements terrestres et aquatiques, y compris les eaux saumâtres et marines, les eaux douces et les eaux usées. Selon la littérature, les *Planctomycètes* se caractérisent par une grande capacité d'adaptation à diverses conditions environnementales difficiles (Chouari et *al*., 2003; Gouache et *al.*, 2020). Ce phylum est représenté par cinq ordres, *Phycisphaerales, Planctomycetales, Gemmatales, Isosphaerales* et *Pirellulales* qui sont affiliés à *Urania-1B-19 marine sediment group* retrouvé dans les sédiments de la baie de la mer (Zheng et *al*., 2014) et au genre *SM1A02* retrouvé dans les boues activées, connu par son rôle dans la nitrification et par la capacité de l'élimination de la DCO des eaux usées et la dégradation de l'acide éthylènediamine-tétraacétique (EDTA) (Chen et *al*., 2019; Zhang et *al*., 2019c). *Rubinisphaera* trouvé dans le réacteur bio-électrochimique et qui a montré la capacité de l'élimination de sulfate et de nitrate (Xu et *al*., 2018).

III.3 Le phylum *Bacteroidetes*

Le phylum des *Bacteroidetes* se place en quatrième position avec 48 OTUs et 4935 séquences 25 OTU's appartiennent à des microorganismes non cultivés. Ce phylum est affilié à trois classes *Bacteroidia, Ignavibacteria* et *Rhodothermia* et qui comprend 8 genres dont *Bacteroidetes* est le plus dominant avec 27 OTUs et 605 séquences. Ces bactéries peuvent dégrader les matières organiques des lixiviats (Yuan et *al.*, 2017).

III.4 Le phylum Actinobacteria

Le phylum *des Actinobacteria* est représenté par 42 OTUs et 3707 séquences, 21 OTUs appartiennent à des micro-organismes non cultivés.

Les *Actinobactéries* sont des bactéries filamenteuses Gram positif qui forment des filaments ramifiés (Sowani et *al*., 2017). Selon la littérature, ces micro-organismes sont présents dans de nombreux environnements aquatiques et qui ont été impliqués dans la floculation, afin de traiter les eaux usées (Agunbiade et *al*., 2016).

Ce phylum est représenté par cinq classes *Acidimicrobiia, Actinomycetia, Thermoleophilia, Nitriliruptoria et Coriobacteriia*

Acidimicrobiia a été retrouvée dans les boues activées, les *Actinomycetia,* peuvent survivre dans les océans, les déserts, les eaux douces et les sols (Wang et *al*., 2015; Yuanqiu et *al.*, 2020) et se caractérisent par leur capacité à résister aux métaux lourds (Jeyanny et *al*., 2020).

Thermoleophilia, sont abondants dans les sources chaudes et le sol (Hu et *al*., 2019). *Nitriliruptoria* et Coriobacteriia se trouvent dans le sol (Zhang et *al*., 2019b).

Ces classes sont affiliées à 20 genre dont *Mycobacterium*, *Citricoccus* et *Leucobacter* sont les plus dominant. *Mycobacterium* est omniprésent dans l'environnement, retrouvé dans le sol et dans l'eau, et certains d'entre eux sont présents dans le tractus gastro-intestinal de certains humains et animaux (Thoen, 1990). Ces OTUs ont une forte similarité à *Mycolicibacterium celeriflavum* qui ont été isolées à partir d'un spécimen pulmonaire humain (Nouioui et *al*., 2019).

*Citricoccu*s a une similarité de 100% avec *Citricoccus zhacaiensis* isolée à partir d'un bioréacteur traitant des eaux usées contenant du sel, et se caractérise par son rôle dans la réduction de nitrate (Meng et *al*., 2010).

Leucobacter a une similarité de 100% à ***Leucobacter chromiisoli*** **isolée à partir du sol contenant du chrome dans une usine chimique, et qui est strictement aérobie** (Xu et *al*., 2021)***.***

III.5 Le phylum des *Chloroflexi*

Les *Chloroflexi* représentent 3,14% d'abondance, et se caractérisent par 52 OTUs et 2510 séquences, dont 38 OTUs appartiennent à des micro-organismes non cultivés.

Les *Chloroflexi* sont des bactéries anaérobies qui ont été détectées dans les sédiments, les sources chaudes, et dans les boues, jouent un rôle fermentatif important (Speirs et *al*., 2019).

Le phylum *Chloroflexi* affilié à six classes *Anaerolineae, Thermomicrobia, Dehalococcoidia, JG30-KF-CM66, OLB14* et *Chloroflexia,* et présenté par deux ordres dominants *Anaerolineales et Sphaerobacterales.*

Anaerolineales présenté par 11 OTUs dont 5 OTUs sont des micro-organismes non cultivés affiliées à *Ornatilinea* qui est classé dans la famille des *Anaerolineaceae,* ce groupe est reconnu par un seul espèce (*Ornatilinea apprima*) caractérisée comme étant filamenteuse, et qui sont des bactéries anaérobies (Podosokorskaya and Kublanov, 2018).

Sphaerobacterales sont présentés *par* 15 *OTUs* dont 9 *OTUs* appartiennent à des micro-organismes non cultivés, et qui sont affiliées à *Nitrolancea,* qui a une forte similarité à *Nitrolancea hollandica Lb,* retrouvée dans un bioréacteur de traitement des eaux usées contenant une forte charge de bicarbonate d'ammonium. Ces bactéries sont caractérisées par leur rôle nitrifiant (Sorokin et *al*., 2014; Spieck et *al*., 2020).

III.6 Le phylum *Firmicutes*

Les Firmicutes représentent 31 OTUs et 786 séquences, dont 5 OTUs sont des microorganismes non cultivés. Selon la littérature, *les Firmicutes* sont parmi les bactéries dominantes dans les bioréacteurs de traitement des lixiviats de la décharge et sont connus comme des bactéries anaérobies hétérotrophes, et qui ont prouvé leur capacité à éliminer la DCO (Yuan et *al*., 2017). Ce phylum affilié à deux classes *Clostridia* et *Bacilli.*

La classe des *Bacilli* est affiliée à deux ordres *Bacilli* et *Lactobacillales*, et qui sont présentés par six genres, Bacillus est le plus dominant avec 5 OTUs et 116 séquences. Ces bactéries sont responsables de l'élimination du carbone organique et de l'azote des lixiviats (Žgajnar Gotvajn and Pavko, 2015).

La classe des *Clostridia* affiliée à un seul ordre *Clostridiales* et qui est affiliée à *Alkaliphilus* et qui a une similarité de 100 % à ***Alkaliphilus oremlandii OhILAs***, ces bactéries se trouvent dans les sédiments, et qui sont connues comme oxydant de l'arsénite (Fisher et *al*., 2008).

III.7 Phylum *Nitrospirae*

Nitrospira sont omniprésents dans les biofilms et les flocs des boues activées. Les études qui ont été menées sur les *Nitrospira* ont montré que ces bactéries jouent un rôle nitrifiant dans les environnements à faible teneur en oxygène, notamment au sein des biofilms et des flocs (Ushiki et *al*., 2017). Un total de 2 OTUs et 602 séquences sont affiliées à un seul ordre *Nitrospirales* est qui ont une similarité de 100% à *Nitrospira sp. enrichment culture clone LPTV-S11* qui se trouve dans les éponges marines, ce sont des micro-organismes nitrifiants (Lau et *al*., 2019).

III.8 Le phylum *Epsilonbacteraeota*

Le phylum de *Epsilonbacteraeota* est représenté par 12 OTUs et 487 séquences et qui sont affiliées à une seule classe *Campylobacteria,* comprenant trois genres *Arcobacter, Sulfurimonas* et *Sulfurovum*. Ces bactéries sont des microorganismes autotrophes, qui ont un rôle de dénitrification dans le traitement biologique des eaux usées (Zhou et *al.*, 2021). Les *Epsilonbacteraeota* sont dominés par les OTUs de *Sulfurimonas* et qui montrent un taux de similarité de 100% à *Uncultured Sulfurimonas sp.* qui sont des bactéries dénitrifiantes (Jin et al., 2017).

III.9 Le phylum *Acidobacteria*

Ce groupe représenté par 8 OTUs et 471 séquences, sont des bactéries Gram négative, et qui sont abondantes dans les habitats du sol (Kielak et *al*., 2016). Nos séquences sont affiliées à trois classes *Thermoanaerobaculia*, *Aminicenantia* et *Subgroup_21* qui sont affiliées à des micro-organimes non cultivés.

III.10 Le phylum *Gemmatimonadetes*

Le phylum *Gemmatimonadetes* sont des microorganismes à Gram négatifs, et qui sont fréquemment détectés dans les banques de gènes d'ARNr 16S environnementales et qui ont été identifiés comme l'un des neuf principaux phylums présents dans les sols, représentant environ 2 % des communautés bactériennes du sol (DeBruyn et *al*., 2011). Les *Gemmatimonadetes* ont été largement détectés dans les sédiments et les eaux usées, et sont des micro-organismes aérobies, caractérisés par l'accumulation de polyphosphates(Zhang et *al*., 2003). Avec 382 séquences et 15 OTU le groupe *Gemmatimonadetes* est affilié à trois classes : *Longimicrobia, Gemmatimonadetes* et *BD2-11_terrestrial_group*.

Longimicrobia est représenté par une OTU appartient à l'ordre *Longimicrobiales,* retrouvés dans le sol (champ pétrolifère, hydrate de gaz) (Mujakić et *al*., 2022), affilié à des micro-organismes non cultivés. La classe des *Gemmatimonadetes* représentées par deux OTUs qui sont affiliées à la famille *Gemmatimonadaceae* appartenant à l'ordre *Gemmatimonadales*, retrouvés dans le sol et les boues activées des stations d'épuration des eaux usées et les eaux douces (Mujakić et *al*., 2022) et qui sont affiliés à des micro-organismes non cultivés. *BD2-11_terrestrial_group* appartient à des micro-organismes non cultivés, que l'on trouve dans les sédiments marins (Mujakić et *al*., 2022).

III.11 Le phylum des *Patescibacteria*

Selon la littérature, *Patescibacteria* est généralement présent dans les eaux souterraines et de surface, et qui peut être impliqué dans les processus de dénitrification (Zhang et *al*., 2021). Ce groupe est représenté par 4 OTUs qui sont affiliées à quatre classes, *Parcubacteria,*

Gracilibacteria, *WS6_ Dojkabacteria*, *Gracilibacteria,* qui sont affiliées à des micro-organismes non cultivés. Par ailleurs, la classe *Parcubacteria* affiliée à *Candidatus Campbellbacteria bacterium GW2011_OD1_34_28.*

III.12 Le phylum des *Zixibacteria*

Zixibacteria représenté par 7 OTU's et 133 séquences, qui sont affiliées à des micro-organismes non cultivés. *Zixibacteria* est connu par son rôle dans la réduction des sulfates/sulfites, dans l'oxydation/réduction du fer et de l'arsenic, les transformations des composés azotés, le métabolisme de l'hydrogène et la fermentation (Anantharaman et *al*., 2018; Castelle and Banfield, 2018; Garber et *al*., 2020).

III.13 Le phylum des *Tenericutes*

Représenté par 4 OTUs et 132 séquences, qui sont affiliées à une seule classe *Mollicutes* appartenant à trois ordres, *Acholeplasmatales* qui comprend *Acholeplasma* comme un seul genre et qui a un pourcentage de similarité de 100% à ***Mariniplasma anaerobium*** **qui sont des bactéries** anaérobies facultatives et qui sont extrêmement diversifies, et qui ont été retrouvées dans, les eaux usées, les insectes, le sol, les plantes et les animaux (Watanabe et *al.*, 2021). L'ordre *Haloplasmatales,* affilié à *Haloplasma* qui montre une forte similarité à *Haloplasmatales bacterium*. L'ordre *Izimaplasmatales* est effilé à des micro-organismes non cultivés.

III.14 Le phylum *des Calditrichaeota*

Ces bactéries anaérobies isolées de sites hydrothermaux marines et se caractérisent par la capacité de dégrader des substrats protéiques (Marshall1 et *al*., 2021).

Ce groupe est représenté par 7 OTUs et 95 séquences qui sont affiliées à un seul ordre *Calditrichales* appartenant à la classe *Calditrichia*, et qui a une forte similarité à *Caldithrix abyssi* et à *Calorithrix insularis* qui sont retrouvées dans le milieu marin. Ce sont des bactéries anaérobie, et connues par leur capacité de la réduction du nitrate (Miroshnichenko et *al*., 2003; Kompantseva et *al*., 2017).

III.15 Les groupes phylogénétiques minoritaires

III.15.1 Le phylum des *Synergistetes*

Les *Synergistetes* sont impliqués dans le processus de digestion (Baumgartner et *al*., 2012; Albers and Siebers, 2014). Ce phylum est Représenté par 4 OTUs et 59 séquences qui sont affiliées à un seul ordre *Synergistales* appartenant à la classe *Synergistia*. Trois OTUs sont affiliées à des micro-organismes non cultivés et une OTU est affiliée à *Synergistetes bacterium* non encore classifiée.

III.15.2 Le phylum *Latescibacteria*

Les *Latescibacteria* sont omniprésents, qui se trouvent dans les écosystèmes terrestres, aquatiques et marins (Youssef et *al*., 2015; Farag et *al*., 2017).

Le phylum *Latescibacteria* représenté par 3 OTUs et 44 séquences, dont ces OTUs sont affiliées à l'ordre *Latescibacteria* appartenant à la famille *Latescibacterales,* ces dernières appartiennent à des micro-organismes non cultivés.

III.15.3 Le phylum *Spirochaetes*

Les *Spirochaetes* se trouvent dans l'eau, le sol, les matières organiques en décomposition, les plantes, les animaux et les humains (Cole, 1990). Ce phylum est représenté par 4 OTUs et 33 séquences, qui sont affiliées à deux classes, *Spirochaetia* le plus dominant avec 3 OTUs qui sont affiliées à l'ordre *Spirochaetales* et qui ont une forte similarité à *Marispirochaeta aestuarii*. Ce sont des bactéries Gram négative, strictement anaérobies (Shivani et *al*., 2017). Une OTU appartient à des micro-organismes non cultivés et une autre OTU affiliée à *Spirochaeta sp. MWH-HuW8* non classifiée.

La deuxième classe est *Leptospirae* avec une seule OTU affiliée à l'ordre *Leptospirales* qui a une similarité de 100% à *Uncultured Spirochaetes bacterium.*

III.15.4 Le phylum *Dadabacteria*

Représenté par 1 OTU et 29 séquences, qui sont affiliées à la classe *Dadabacteriia* et à la famille *Uncultured_candidate_division_RSD1093_bacterium,* impliquée dans la dénitrification dans des eaux souterraines (Hug et *al*., 2016).

III.15.5 Le phylum *Atribacterota*

Atribacterota sont des bactéries que l'on trouve dans les sédiments marins, les écosystème géothermiques, les digesteurs et les réacteurs anaérobies et les réservoirs (Nobu et *al*., 2016; Katayama et *al*., 2020; Graham and Tully, 2021).
Ce phylum est représenté par 2 OTUs et 28 séquences affiliées à des micro-organismes non cultivés qui se trouvent dans les sédiments marins (Lee et *al*., 2017).

III.15.6 Le phylum *Acetothermia*

Le phylum *Acetothermia* occupe divers habitats, qui a été détecté dans plusieurs digesteurs anaérobies, qui joue un rôle dans la conversion de la matière organique en biogaz (Hao et *al*., 2018). Représenté par 2 OTUs et 21 séquences affiliées à la classe *Acetothermiia* et qui représente une forte similarité avec *bacterium_enrichment_culture_clone_AOM-SR-B11*, sont des micro-organismes caractérisés par leur rôle dans l'oxydation anaérobie du méthane et des sulfates, et sont présents dans les écosystèmes d'eau froide (Borrel, 2011; Zhang et *al*., 2011).

III.15.7 Le phylum *Dependentiae*

Le phylum *Dependentiae* est répandu dans divers environnements, notamment les tourbières, les sols et les eaux usées (Deeg et *al*., 2019) représenté par 2 OTUs et 19 séquences, qui sont affiliées à la classe *Babeliae* et à l'ordre *Babeliales* et qui ont une similarité de 100% à ***Uncultured Candidatus Dependentiae bacterium.***

III.15.8 Le phylum *Chlamydiae*

Une OTU et 13 séquences appartiennent au groupe *Chlamydiae,* affilié à la classe *Chlamydiia,* appartenant à l'ordre *Parachlamydiales,* et qui a une forte similarité avec *Simkaniaceae bacterium* (non classifié).

III.15.9 Le phylum *BRC1*

Ce phylum a été trouvé dans divers environnements, notamment les sols, les boues activées, les digesteurs anaérobies, les réacteurs de traitement des eaux usées, les sédiments marins les

eaux douces et les sources géothermiques. Une OTU et 11 séquences appartiennent au groupe BRC1 (Bacterial rice cluster 1). Ce sont des micro-organismes non encore cultivés, que l'on trouve dans le sol anoxique de riz inondé (Kadnikov et *al*., 2019).

III.15.10 Le phylum *Marinimicrobia (SAR406_clade)*

Des études qui ont été menées sur ces micro-organismes isolés à partir de la "zone morte" du Mexique, ont montré que ces bactéries jouent un rôle dans la réduction des nitrites et du thiosulfate (Huang and Wang, 2020). Le rang de ce phylum n'est pas actuellement reconnu dans le Code International de Nomenclature des Procaryotes.

III.15.11 Le phylum *Elusimicrobia*

Elusimicrobia représenté par une OTU et 8 séquences, qui sont affiliées à une seule classe *Endomicrobia* appartenant à l'ordre *Endomicrobiales,* et qui ont une similarité à *Candidatus Endomicrobium*. ces bactéries ont un métabolisme strictement anaérobique et fermentatif, retrouvées dans l'intestin des termites, des cafards et d'autres insecte, et qui ont été détectées dans les sédiments, les sols et les eaux souterraines (Stingl et *al*., 2005; Brune, 2018; Méheust et *al*., 2020).

III.15.12 Le phylum *Fusobacteria*

Une OTU et 7 séquences appartiennent à ce groupe. Il fait partie de la classe *Fusobacteriia* affiliée à l'ordre *Fusobacteriales.* Cette OTU est affiliée au genre *Psychrilyobacter*, ce sont des bactéries anaérobies retrouvées en grand nombre dans les eaux usées et qui sont souvent liées à l'inflammation intestinale, la formation de tumeurs et au cancer du tube digestif des mammifères (Zhao et *al*., 2009a ; LibreTexts, 2021; Mehl et *al*., 2021).

III.15.13 Le phylum *Nitrospinae*

Nitrospinae représenté par 1 OTU et 7 séquences qui sont affiliées à la classe *Nitrospinia* et appartenant au genre *Nitrospina*, qui a une similarité de 100% à ***Uncultured Nitrospinaceae bacterium.*** Ce**s** bactéries jouent un rôle d'oxydants des nitrites, et qui se trouvent dans l'eau libre, les sédiments, les fosses en eaux profondes et elles jouent un rôle dans la fixation du carbone (Mueller et *al*., 2021; Sun et *al*., 2019).

IV. Domaine des Eucaryotes

Le regroupement des séquences à 97% de similarité, de la banque des *Eucaryotes* isolés à partir de notre boue, montre qu'il y a 18 phyla.

La figures 31 représente le pourcentage d'abondance des phyla en fonction de la répartition des OTUs et des séquences.

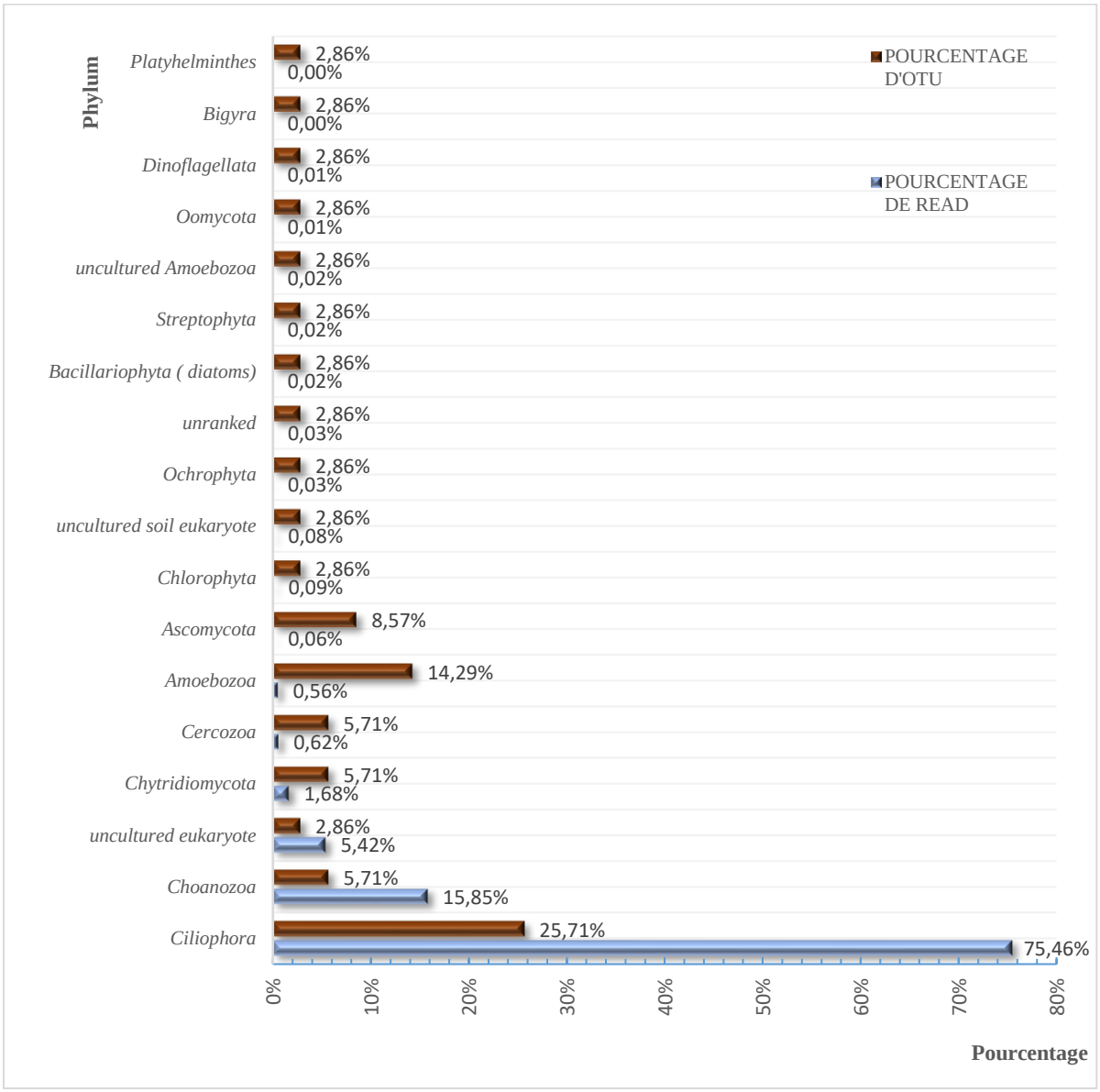


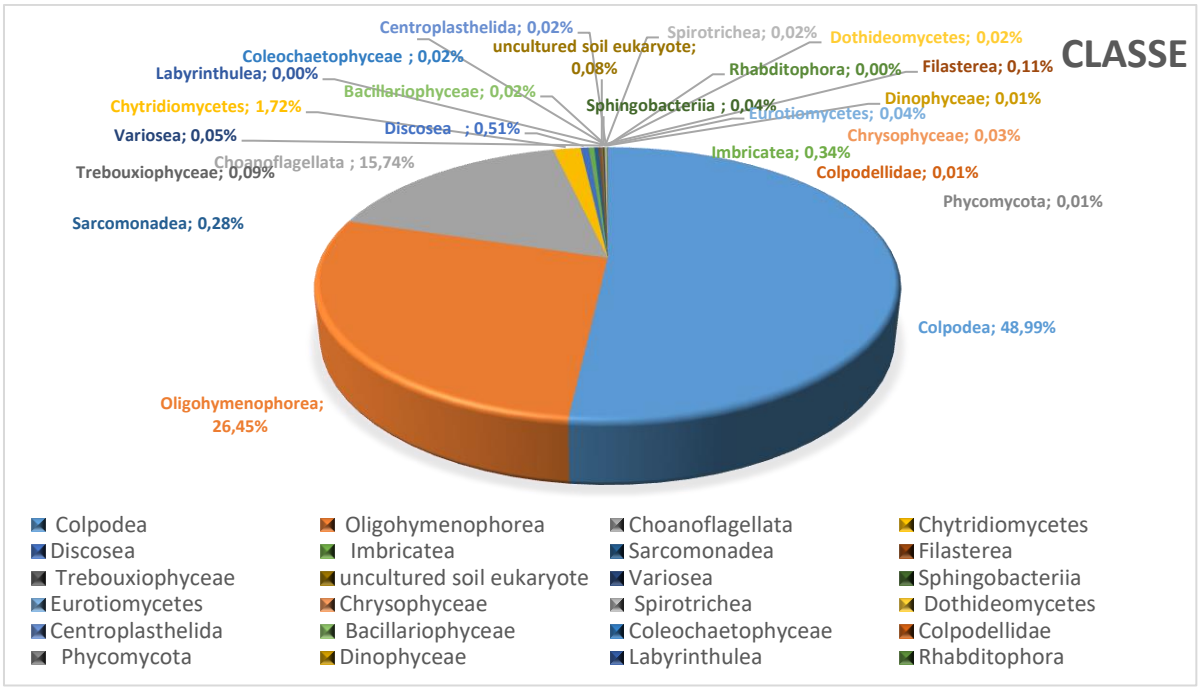
Figure 31: Abondance des phyla des *Eukaryotes* en pourcentage de la totalité des séquences obtenues et d'OTUs

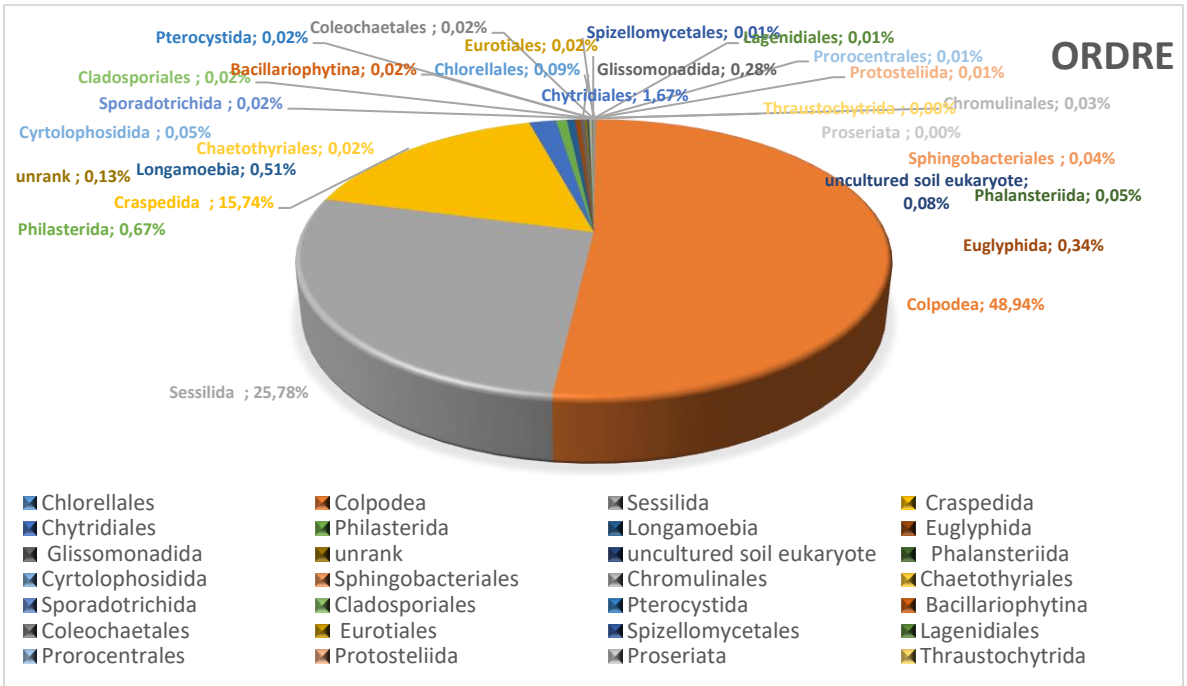
- Les séquences affiliées au phylum *Ciliophora* sont les plus dominantes parmi les *Eucaryotes* avec un pourcentage de 75,46% des séquences et 25,71% de l'ensemble des OTUs.
- Le deuxième groupe en termes d'abondance est celui des *Choanozoa* avec un pourcentage de 15,85% des séquences.
- Les deux groupes *Uncultured eukaryote* et *Chytridiomycota* avec un pourcentage de dominance respectivement de 15,85% et 5,42% concernant le nombre des séquences, et de 5,71% et 2,86% concernant le pourcentage des OTU's.

- Le phylum de *Cercozoa* qui représente 0,62% de la diversité totale et 5,71% de l'abondance totale.
- Les *Amoebozoa*ne ne représentent que 0,56% de la diversité totale.
- Les *Ascomycota* ne représentent que 0,06% de la diversité totale.
- Les *Chlorophyta* ne représentent que 0,09% de la diversité totale.
- Les eucaryotes du sol non cultivés ne représentent que 0,08%.

D'autres groupes sont retrouvés dans notre bioréacteur (RSD) mais qui sont minoritaires (0,12% de la diversité totale) et qui sont représentés par les phyla : *Ochrophyta, non classé, Bacillariophyta (diatoms), Streptophyta, uncultured Amoebozoa, Oomycota, Dinoflagellata, Bigyra, Platyhelminthes*.

Selon les résultats de l'annotation taxonomique, nous avons sélectionné les principaux taxons de chaque groupe, pour montrer l'abondance relative des taxons (Figure 32).


CLASSE
Centroplasthelida; 0,02%
Spirotrichea; 0,02%
Dothideomycetes; 0,02%
uncultured soil eukaryote; 0,08%
Coleochaetophyceae ; 0,02%
Rhabditophora; 0,00%
Filasterea; 0,11%
Labyrinthulea; 0,00%
Bacillariophyceae; 0,02%
Sphingobacteriia ; 0,04%
Dinophyceae; 0,01%
Chytridiomycetes; 1,72%
Eurotiomycetes; 0,04%
Variosea; 0,05%
Discosea ; 0,51%
Chrysophyceae; 0,03%
Imbricatea; 0,34%
Choanoflagellata ; 15,74%
Trebouxiophyceae; 0,09%
Colpodellidae; 0,01%
Phycomycota; 0,01%
Sarcomonadea; 0,28%
Colpodea; 48,99%
Oligohymenophorea; 26,45%
Colpodea
Oligohymenophorea
Choanoflagellata
Chytridiomycetes
Discosea
Imbricatea
Sarcomonadea
Filasterea
Trebouxiophyceae
uncultured soil eukaryote
Variosea
Sphingobacteriia
Eurotiomycetes
Chrysophyceae
Spirotrichea
Dothideomycetes
Centroplasthelida
Bacillariophyceae
Coleochaetophyceae
Colpodellidae
Phycomycota
Dinophyceae
Labyrinthulea
Rhabditophora


ORDRE
Pterocystida; 0,02%
Coleochaetales ; 0,02%
Spizellomycetales; 0,01%
Eurotiales; 0,02%
Legenidiales; 0,01%
Bacillariophytina; 0,02%
Chlorellales; 0,09%
Glissomonadida; 0,28%
Prorocentrales; 0,01%
Cladosporiales ; 0,02%
Protosteliida; 0,01%
Chytridiales; 1,67%
Sporadotrichida ; 0,02%
Thraustochytrida ; 0,00%
Chromulinales; 0,03%
Cyrtolophosidida ; 0,05%
Proseriata ; 0,00%
Chaetothyriales; 0,02%
Sphingobacteriales ; 0,04%
unrank ; 0,13%
Longamoebia; 0,51%
uncultured soil eukaryote; 0,08%
Craspedida ; 15,74%
Phalansteriida; 0,05%
Philasterida; 0,67%
Euglyphida; 0,34%
Colpodea; 48,94%
Sessilida ; 25,78%
Chlorellales
Colpodea
Sessilida
Craspedida
Chytridiales
Philasterida
Longamoebia
Euglyphida
Glissomonadida
unrank
uncultured soil eukaryote
Phalansteriida
Cyrtolophosidida
Sphingobacteriales
Chromulinales
Chaetothyriales
Sporadotrichida
Cladosporiales
Pterocystida
Bacillariophytina
Coleochaetales
Eurotiales
Spizellomycetales
Lagenidiales
Prorocentrales
Protosteliida
Proseriata
Thraustochytrida

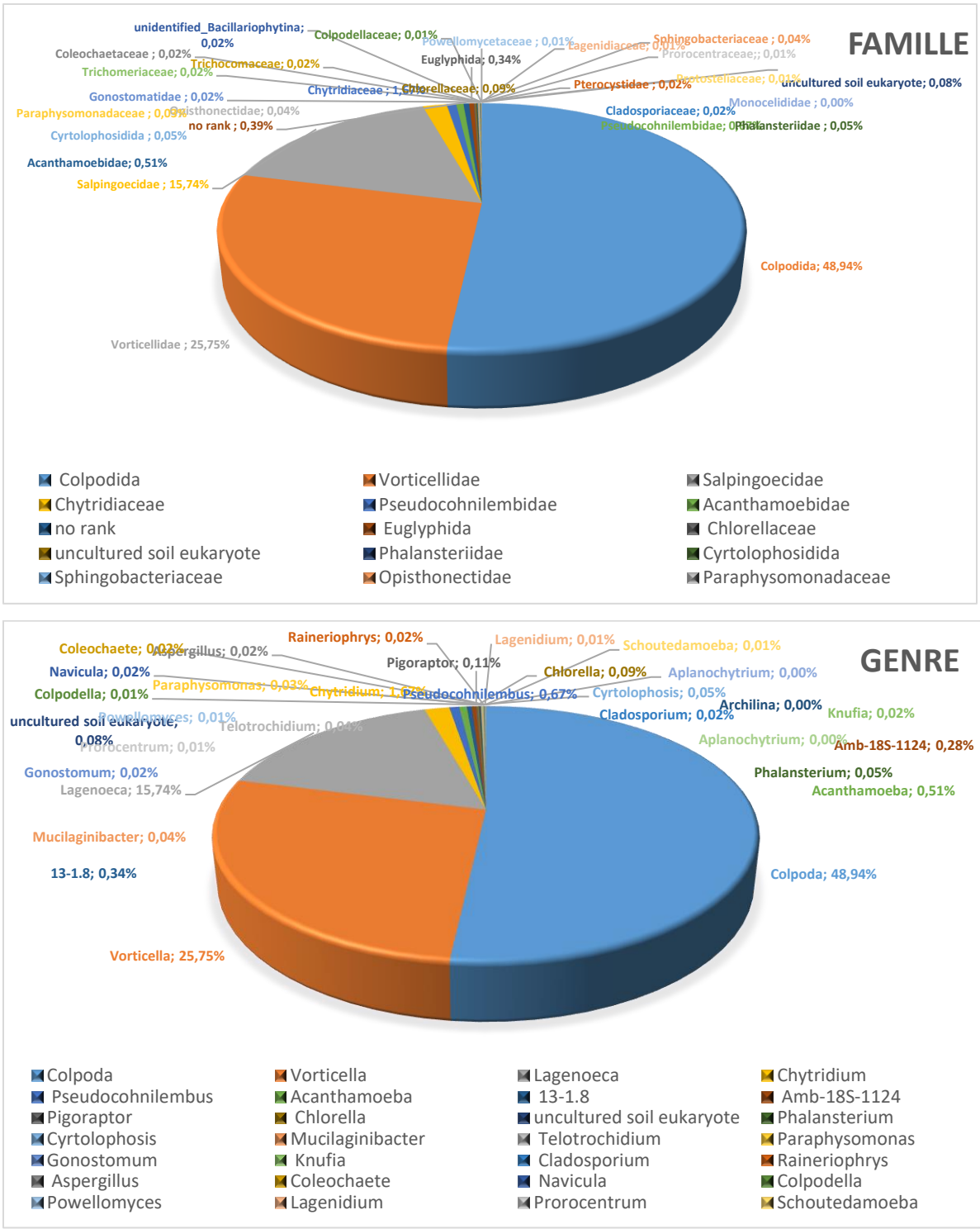


Figure 32: les principaux taxons à chaque rang taxonomique (Phylum, Classe, Ordre, Famille, Genre).

IV.1 Phylum *Ciliophora*

Le phylum de *Ciliophora* est un clade très diversifié des microorganismes eucaryotes, qui contient plus de 8000 espèces. Ces microorganismes se caractérisent par une grande taille et sont les prédateurs supérieurs dans des micro-organismes alimentaires microbiens. Leur rôle est important, car ils font partie de la boucle microbienne et participent dans la minéralisation et le recyclage de la matière organique dans les écosystèmes terrestres et aquatiques. Ils se nourrissent de bactéries, de protistes plus petits et même d'autres ciliés et donc ils participent dans le maintien de l'équilibre de l'écosystème. Certaines espèces peuvent être retrouvées dans les boues activées des stations d'épuration et d'autres dans les environnements anoxiques aussi bien que dans les eaux douces (Schaechter, 2017; Abraham et *al.*, 2019).

Ce phylum est représenté par un ensemble de **9 OTUs,** représentés par 99 596 séquences affiliées à trois classes avec la dominance de *Colpodea* suivi d'*Oligohymenophorea* et *Spirotrichea.*

Ce phylum est représenté par six genres : *Colpoda, Vorticella, Pseudocohnilembus, Cyrtolophosis, Telotrochidium,* et *Gonostomum.*

1) *Colpoda* se trouve souvent dans le sol (Hartel, 1979) et montre une similarité de 100% avec trois espèces *: Colpoda elliotti* retrouvée dans les crottes de cerfs (P C Bradbury, 2013), *Colpoda aspera* qui a été isolée à partir des boues activées (Kakiichi et al., 1991), ainsi que *Colpoda steinii* **qui a une capacité de résistance aux métaux lourds**. Celui-ci a été utilisée pour évaluer la toxicité et la biodisponibilité des métaux lourds dans des boues activées d'une station d'épuration (Campbell et *al*., 1997; Díaz et *al.*, 2006).

2) *Vorticella* qui se trouve dans les environnements marins, d'eau douce et terrestre, ainsi que dans les boues activées des stations d'épuration des eaux usées et qui peut être utilisée comme indicateur biologique de la performance des stations d'épuration (Foissner, 2016; Sun et *al.*, 2013; Weisse et *al*., 2021). Il a une forte similarité avec *Vorticella sphaeroidalis,* une espèce nouvelle qui a été isolée à partir des eaux saumâtres (Liang et *al*., 2019).

3) *Pseudocohnilembus* a une similarité avec *Pseudocohnilembus persalinus*, qui est un cilié marin signalé pour la première fois par Evans et Thompson en 1964, puis en 2004 par Kim et ses collègues qui ont isolé *Pseudocohnilembus persalinus* à partir d'une limande malade. Ils ont signalé que ces micro-organismes font partie des pathogènes facultatifs (Wei et *al*., 2018) et

peuvent être trouvés dans la boue activée utilisée pour le traitement des eaux usées dans des conditions hyper-salines (Ferrer-Polonio et *al*., 2017).

4) *Cyrtolophosis*a présente une similarité avec *Cyrtolophosis mucicola,* qui a été isolée à partir d'un bioréacteur utilisé pour le traitement des eaux usées (Garcia-Ruiz et *al*., 2021).

5) *Telotrochidium* montre une similarité avec *Telotrochidium matiense* retrouvée dans un bioréacteur utilisé pour le traitement des eaux usées (Martín-Cereceda et *al*., 2007).

6) *Gonostomum* a une similarité avec *Gonostomum sinicum* qui est une nouvelle espèce collectée à partir du sol salin (Lu et *al*., 2017).

IV.2 Phylum *Choanozoa*

Ce sont des protozoaires hétérotrophes unicellulaires (Cavalier-Smith and Chao, 2003). Ce phylum est représenté par 2 OTUs représentés par 20923 séquences et qui sont affiliées à deux classes : *Choanoflagellata* (20 773 séquences) et *Filasterea* (150 séquences).

- *Choanoflagellata* affiliée au genre *Lagenoeca* possèdant une similarité avec *Lagenoeca sp. antarctica* est souvent trouvée dans les profondeurs de la mer (Nitsche et *al*., 2007).

- *Filasterea* affiliée au genre *Pigoraptor* présente une similarité avec *Pigoraptor vietnamica,* retrouvée dans les sables limoneux sur le littoral d'un lac d'eau douce (Tikhonenkov et *al.*, 2020). Ce sont des prédateurs qui se nourrissent des proies eucaryotes (Hehenberger et *al*., 2017).

IV.3 Phylum *Eucaryote non cultivé*

Représenté par 1 OTU et 7152 séquences qui sont affiliées à des microorganismes non encore cultivés (Evans and Seviour, 2012; Matsunaga et *al*., 2014)..

IV.4 Phylum *Chytridiomycota*

Les *Chytridiomycota* se définissent comme des champignons d'origine typiquement aquatiques, et se distinguent des autres champignons par la présence d'une zoospore mobile et flagellée (Gladieux et *al*., 2011). Elles contribuent généralement à la dégradation des matières organiques (Hanrahan-tan et *al*., 2022). Ils sont représentés par 2 OTUs et 2217 séquences qui sont affiliées à deux genres : *Chytridium* et *Powellomyces.*

- *Chytridium* possède une similarité avec *Chytridium lagenaria*, qui a été trouvée dans les eaux douces. Ce sont des parasites d'algues facultatifs (Vélez et *al*., 2013). Ces micro-organismes ont été trouvés dans des boues activées d'une station de traitement des eaux usées dans des conditions anaérobies (Wang et *al*., 2020).

- *Powellomyce*, ce genre présente une similitude avec *Powellomyces hirtus*, qui ont été trouvées dans un bioréacteur de traitement des eaux usées lors d'une granulation aérobie et sont connus comme dégradeurs de chitine et de kératine (Williams and de los Reyes, 2006), et se caractérisent également par leur capacité à utiliser le nitrate comme source d'azote (Digby et *al*., 2010).

IV.5 Phylum *Cercozoa*

Le Phylum des *Cercozoa* comprend un grand nombre des protozoaires sur le plan écologique. Ils sont quantitativement abondants dans le sol et se trouvent aussi dans l'eau douce et dans les eaux marines (Bass and Cavalier-Smith, 2004), mais aussi retrouvés dans un réacteur à boue anaérobie (Hirakata et *al*., 2019). Ce phylum de *Cercozoa* est représenté par **1 OTU et 450 séquences** qui sont affiliées à la classe *Imbricatea* et appartenant au genre ***Euglypha*** trouvé dans les boues du traitement biologique aérobie et anaérobie des eaux usées (Ortiz et *al*., 2009), affilié à *Uncultured Euglyphida* qui sont des microorganismes non cultivables. *Euglypha* a été retrouvé dans les boues activées et qui intervient dans l'élimination de la DCO, NTK et NH_4 dans les eaux usées (Fernandes et *al*., 2013).

IV.6 Phylum *Amoebozoa*

Les *Amoebozoa* comptent plus de mille espèces abondantes dans le sol et retrouvées dans tous les habitats aquatiques (Cavalier-Smith et *al*., 2016). Ces microorganismes sont généralement connus comme des organismes unicellulaires jouant un rôle important en tant que prédateurs primaires des bactéries dans le sol et dans l'eau douce, ainsi qu'un rôle écologique important dans le contrôle des bactéries environnementales (Schilde, 2019; Tekle et *al*., 2021). Ce phylum est représenté par **4 OTUs et 677 séquences** affiliées à deux classes : *Discosea* et *Variosea*.

- La classe *Discosea* est représentée par 3 OTUs et 668 séquences, et affiliée au genre *Acanthamoeba*. Deux OTUs ont une similarité à des microorganismes non classés et une OTU qui a une forte similarité avec *Acanthamoeba micheli*. Ce sont des amibes ubiquitaires existant dans un large éventail d'environnements tels que le sol, la

poussière, l'air, l'eau douce, l'eau de mer, les sédiments et les eaux usées (Putaporntip et *al*., 2021).

- La classe des *Variosea* est représentée par une OTU appartenant à l'ordre de *Protosteliida,* et au genre *Schoutedamoeba*. Elle a une forte similarité à *Schoutedamoeba minuta,* isolée à partir d'un échantillon de fleurs d'eau d'un étang à poissons (Van Wichelen et *al*., 2016).

IV.7 Phylum *Evosea*

Le phylum *Evosea* est représenté par 1 OTU et 61 séquences, et affilié à la classe *Variosea,* appartenant au genre *Phalansterium.* Ce sont des microorganismes flagellés hétérotrophes qui ne sont pas encore bien connus (Shmakova et *al*., 2018).

IV.8 Phylum *Chlorophyta*

Il comprend la plupart des espèces décrites des algues vertes et qui se caractérisent par une grande diversité morphologique et par leur capacité à se développer dans un large éventail des conditions environnementales (Baldisserotto *et al*., 2022).

Ce phylum est représenté par 120 séquences et 1 OTU. Il fait partie de la classe de *Trebouxiophyceae* qui est affiliée à la famille *Chlorellaceae* et à l'ordre *Chlorellales*. Cette OTU est affiliée au genre *Chlorella* qui représente une similarité avec *Chlorella sorokiniana*. C'est une micro-algue qui joue un rôle important dans **l'élimination du nitrate et du phosphate dans l'eau** (Escapa et *al*., 2015)

IV.9 Phylum *Uncultured soil eukaryote*

Représentés par une seule OTU et 99 séquences.

IV.10 Phylum *Ochrophyta*

Ochrophyta se trouve dans les milieux *aquatiques*. Certains *Ochrophytes* vivent dans des écosystèmes terrestres où il y a suffisamment d'humidité nécessaire pour les processus cellulaires et pour la reproduction (Harper et *al*., 2012). Le phylum *Ochrophyta* est représenté par 1 OTU et 41 séquences qui sont affiliées à la classe des *Chrysophyceae* et au genre *Paraphysomonas*. *Paraphysomonas imperforata* se trouve souvent dans les eaux marines et douces et se caractérisent par leur capacité de minéralisation des principaux nutriments

(azote/phosphore), source alimentaire pour la croissance de ces microorganismes (Nicholls and Wujek, 2003; Rose et *al*., 2008).

IV.11 Phylum *non classé*

Deux OTUs sont affiliées à des microorganismes où leur phylum est non encore identifié.

- 1er OTU est représentée par 25 séquences : affilié au clade de *Haptista* et affiliée à la classe *Centroplasthelida* et au genre *Raineriophrys* qu'on trouve dans les eaux douces (Prokina and Mylnikov, 2019).

- 2ème OTU est représentée par 16 séquences : affiliée au clade d'**Alveolata** et à la classe *Colpodellidae* et au genre *Colpodella.* C'est un groupe de petits flagellés qui sont connues comme des prédateurs qui se nourrissent de protistes et d'algues (Getty et *al*., 2021; Xu et *al*., 2022).

IV.12 Phylum *Bacillariophyta*

Bacillariophyta, également connu sous le nom de *Diatomées*, constitue le groupe d'algues autotrophes le plus riche en espèces. On les trouve dans les eaux douces, saumâtres et marines du monde entier. Ainsi que dans les habitats terrestres humides (David G. Mann, Richard M. Crawford, 2017).

Ce phylum est représenté par **1 OTU et 20 séquences**, et il appartient à la classe *Bacillariophyceae* affilée à l'ordre de *Bacillariophytina* et appartenant au genre *Navicula* qui a une similarité de 100% à *Navicula salinicola.* **Ce genre se caractérise par une forte efficacité de l'élimination du Pb et du Cr dans les milieux aqueux** (Elleuch et *al*., 2021).

IV.13 Phylum *Jakobida non cultivé*

Ce phylum est représenté par 1 OTU et par 20 séquences qui sont affiliées à des microorganismes non cultivables. *Jakobida* est un groupe récemment découvert de nanoflagellés hétérotrophes et qui a été retrouvé dans des boues activées d'une station de traitement des eaux usées (Luo et *al*., 2013; Correa-Galeote et *al*., 2021).

IV.14 Phylum *Amobozoa* non cultivé

Le phylum *Amoebozoa* non cultivé est représenté par 1 OTU et 20 séquences qui sont affiliées à des microorganismes non cultivables.

IV.15 Phylum *Oomycota*

Ce phylum est représenté par 1 OTU et par 15 séquences qui sont affiliées à la classe *Phycomycota* et au genre *Lagenidium.* Il a une similarité avec *Lagenidium deciduum* retrouvé dans une station de traitement des eaux usées (Zahedi et *al*., 2019).

IV.16 Phylum *Dinoflagellata*

Ce phylum est représenté par 1 OTU et par 11 séquences qui sont affiliées à la classe *Dinophyceae,* au genre *Prorocentrum.* Ce phylum représente une similarité à *Prorocentrum foraminosum* qu'on peut trouver dans les eaux douces et les eaux marines (Faust, 1993; Species et *al*., 2007).

IV.17 Phylum *Bigyra*

Ce phylum est représenté par 1 OTU et par 6 séquences affiliées à la classe *Labyrinthulea,* au genre *Aplanochytrium* qui sont connue comme des décomposeurs de la matière organique (Hamamoto and Honda, 2019) et représente une similarité à *Aplanochytrium blankum.*

IV.18 Phylum des *Platyhelminthes*

Ce phylum est représenté par 1 OTU et par 6 séquencés affiliées à la classe de *Rhabditophora,* genre *Archilina*. Il possède une similarité à *Archilinaendostyla* généralement trouvée dans les habitas saumâtres (Curini-gai.i.e.iti and Martens, 1990).

V. *Les champignons*

Le regroupement des séquences des *champignons* montre qu'il existe 2 phylums :

1) *Ascomycota,*
2) *Basidiomycota.*

Les figures 33 et 34 représentent la répartition de ces deux phylums.

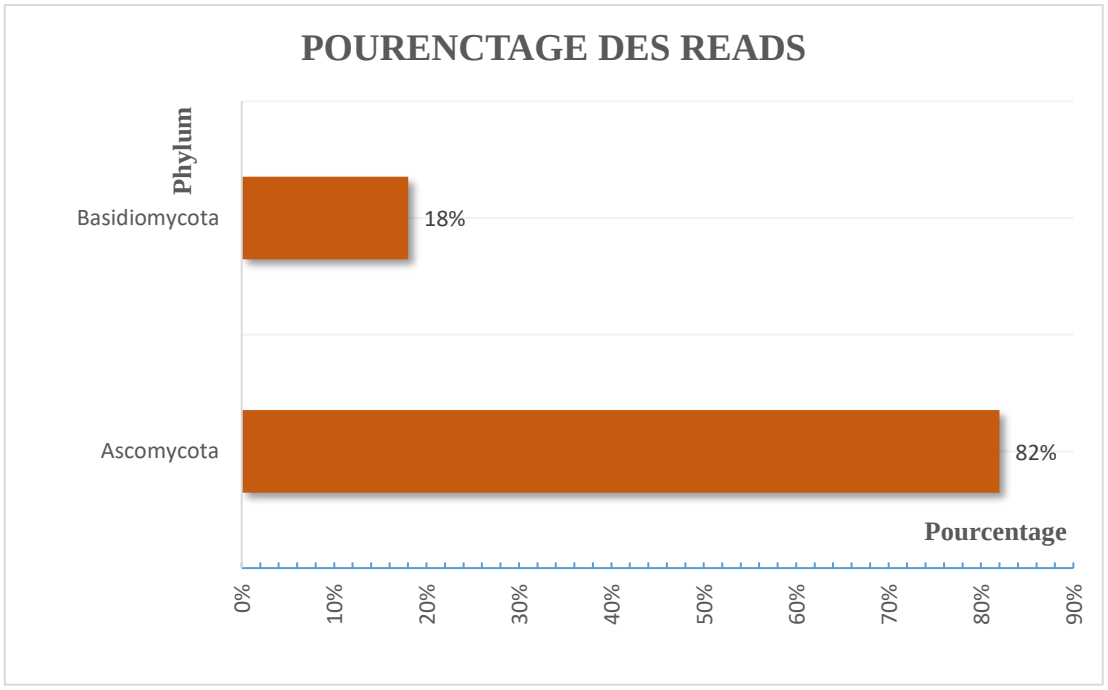


Figure 33: Abondance des phyla des *champignons* en pourcentage de la totalité des séquences obtenues

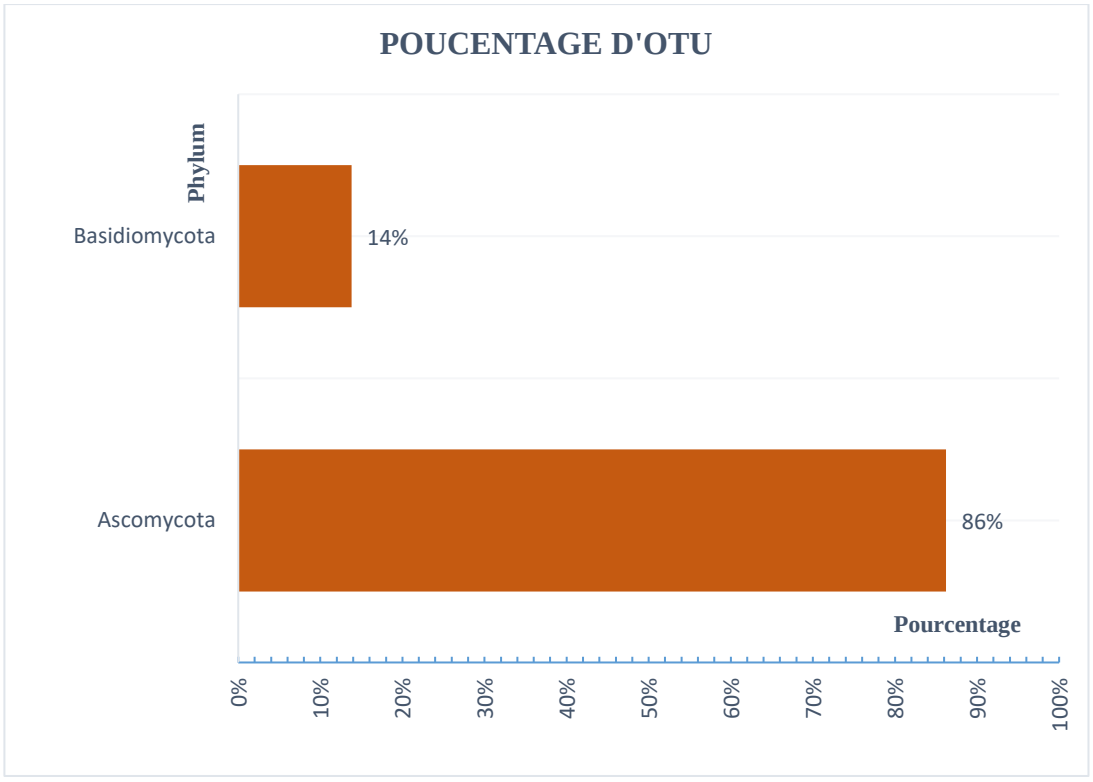
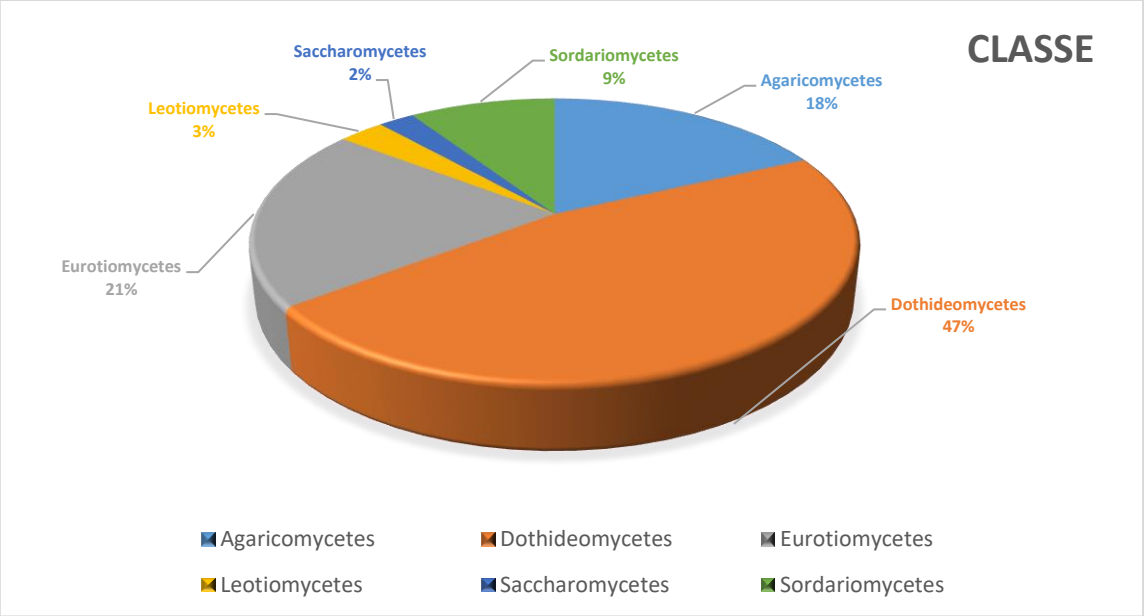


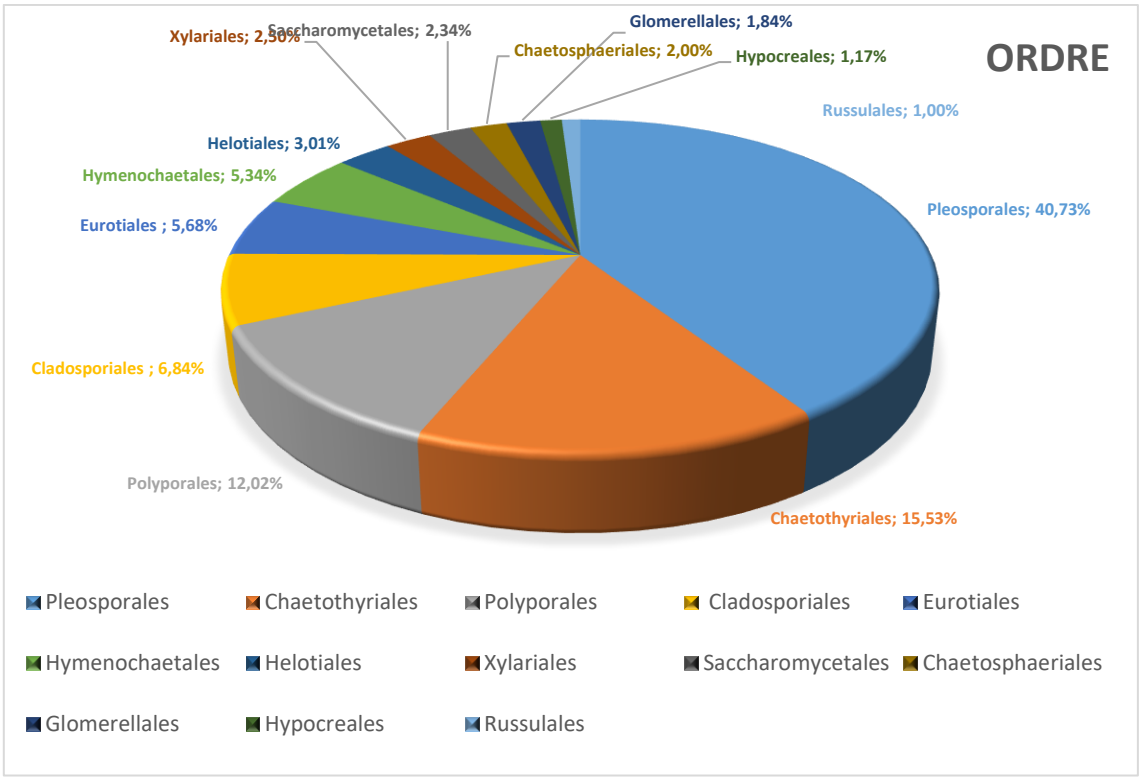
Figure 34: Abondance des phyla des *champignons* en pourcentage d'OTUs.

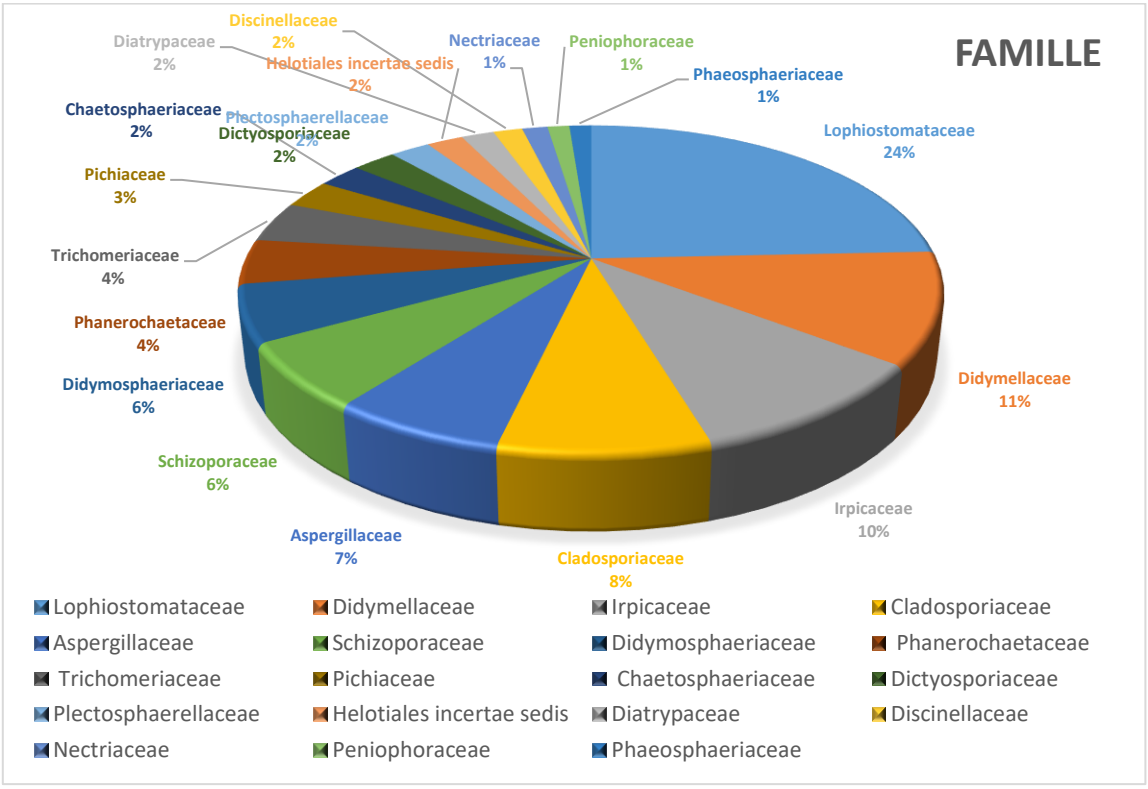
Le groupe des champignons trouvé dans notre boue est affilié au phylum des *Ascomycota*, avec un pourcentage de 82% des séquences et 86% de l'ensemble des OTUs.

Le deuxième groupe en termes d'abondance est celui des *Basidiomycota* avec un pourcentage de 18% des séquences et 14% de l'ensemble des OTUs.

Selon les résultats de l'annotation taxonomique, nous avons sélectionné les principaux taxons de chaque groupe, pour montrer l'abondance relative des taxons (Figure 35).




ORDRE
Xylariales; 2,30%
Saccharomycetales; 2,34%
Glomerellales; 1,84%
Chaetosphaeriales; 2,00%
Hypocreales; 1,17%
Russulales; 1,00%
Helotiales; 3,01%
Hymenochaetales; 5,34%
Eurotiales ; 5,68%
Pleosporales; 40,73%
Cladosporiales ; 6,84%
Polyporales; 12,02%
Chaetothyriales; 15,53%
Pleosporales
Chaetothyriales
Polyporales
Cladosporiales
Eurotiales
Hymenochaetales
Helotiales
Xylariales
Saccharomycetales
Chaetosphaeriales
Glomerellales
Hypocreales
Russulales


FAMILLE
Discinellaceae 2%
Diatrypaceae 2%
Helotiales incertae sedis 2%
Nectriaceae 1%
Peniophoraceae 1%
Phaeosphaeriaceae 1%
Chaetosphaeriaceae 2%
Plectosphaerellaceae 2%
Dictyosporiaceae 2%
Lophiostomataceae 24%
Pichiaceae 3%
Trichomeriaceae 4%
Phanerochaetaceae 4%
Didymosphaeriaceae 6%
Didymellaceae 11%
Schizoporaceae 6%
Irpicaceae 10%
Aspergillaceae 7%
Cladosporiaceae 8%
Lophiostomataceae
Didymellaceae
Irpicaceae
Cladosporiaceae
Aspergillaceae
Schizoporaceae
Didymosphaeriaceae
Phanerochaetaceae
Trichomeriaceae
Pichiaceae
Chaetosphaeriaceae
Dictyosporiaceae
Plectosphaerellaceae
Helotiales incertae sedis
Diatrypaceae
Discinellaceae
Nectriaceae
Peniophoraceae
Phaeosphaeriaceae

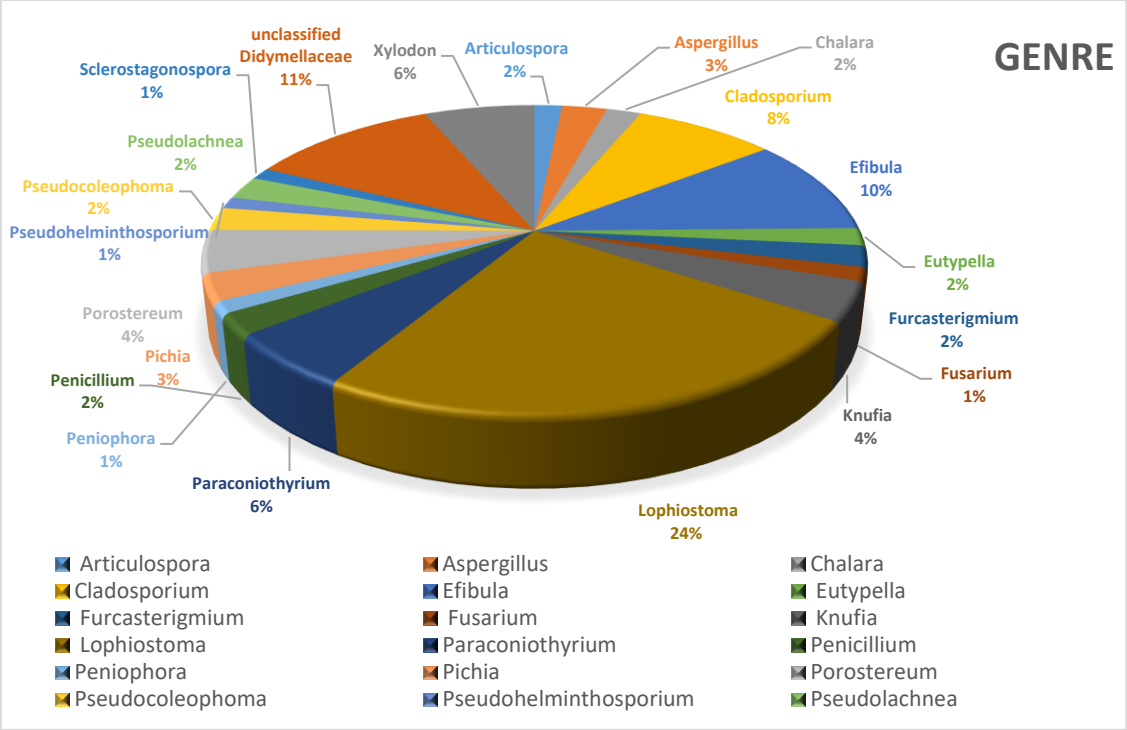


Figure 35: les principaux taxons à chaque rang taxonomique (Phylum, Classe, Ordre, Famille, Genre).

V.1 Phylum *Ascomycota*

D'après la littérature, *Ascomycota* constitue le groupe le plus important et le plus diversifié des champignons existants (Taylor et *al*., 2015) et qui comprennent environ 110 000 espèces (Wijayawardene et *al*., 2021). Les individus de ce phylum sont présents dans de nombreuses niches écologiques et dans pratiquement tous les écosystèmes terrestres et aquatiques. Ils participent à la décomposition des substrats organiques (bois, litière de feuilles et fumier, etc.) et agit en tant que mutualiste, parasite et pathogène des animaux, des plantes et d'autres champignons. Des études récentes ont montré que les *Ascomycota* sont la communauté fongique prédominante dans la boue activée (Assress et *al*., 2019)

Ce groupe représente 24 OTUs et 501 séquences et qui sont affiliées à cinq classes : *Dothideomycetes, Eurotiomycetes, Sordariomycetes, Leotiomycetes* et *Saccharomycetes.*

V.1.1 Classe *Dothideomycetes*

Les *Dothideomycetes* sont représentés par 10 OTUs et 311 séquences, et sont affiliés à deux ordres : 8 OTUs appartiennent à *Pleosporales* dont deux OTUs représentent des

microorganismes non classés, et 6 OTUs ont une forte similarité avec *Lophiostoma macrostomoides, Paraconiothyrium hakeae, Pseudocoleophoma rusci, Sigarispora rosicola, Sclerostagonospora cycadis* et *Pseudohelminthosporium clematidis.*

- *Lophiostoma macrostomoides* retrouvée dans le bois des arbres et arbustes à feuilles caduques tels que *Quercus Ulmus* et *Salix, m*ais aussi sur le conifère *Juniperus communis* (Andreasen et al., 2021).

- *Paraconiothyrium hakeae*se représente sur les feuilles de *Hakea sp*. (Crous and Groenewald, 2017).

- *Pseudocoleophoma rusci* est une nouvelle espèce retrouvée sur les feuilles de *Ruscus aculeatus* (Jiang et *al*., 2021).

- *Sigarispora rosicola* se trouve dans les bois en décomposition (Bao et *al*., 2019).

- *Sclerostagonospora cycadis*se se trouve sur les feuilles de *Cycas revoluta* (Crous et *al*., 2015).

- *Pseudohelminthosporium clematidis retrouvée* sur du bois en décomposition ou du matériel végétal herbacé dans des habitats terrestres (Phukhamsakda et *al*., 2020).

Le deuxième ordre *Cladosporiales* est représenté par 2 OTUs, affiliées à un seul genre *Cladosporium*. Avec une forte similarité avec *Cladosporium cladosporioides* et *Cladosporium herbarum.*

- *Cladosporium cladosporioides* adsorbe efficacement le Cu (II) (do Carmo et *al*., 2013).

- *Cladosporium herbarum*a montre une grande capacité d'accumulation de Cu^{2+}, de Pb^{2+}, et de Zn^{2+} (Bieńkowski et *al*., 2004).

V.1.2 *C*lasse des *Eurotiomycetes*

Les Eurotiomycetes sont représentés par 7 OTUs et 176 séquences, qui ont une similarité avec *Knufia perforans*un champignon mésophile mais très tolérant au stress que l'on trouve dans les environnements chauds et secs (Zakharova et *al*., 2013). *Knufia aspidiotus* sont des levures noires vivant sur les branches de *buckthorn*, et *Rhamnus parvifolia* (He et *al*., 2013). *Aspergillus versicolor* est capable d'accumuler des métaux lourds tels que le chrome (VI), le cuivre (II) et le nickel (Taştan et *al*., 2010). *Penicillium polonicum* se caractérise par l'élimination du Pb(II) (Xu et *al*., 2020). *Aspergillus venenatus* sont retrouvées dans les vasières et dans le sable marin et sur les matières végétales, l'air, la peau et des vêtements, et isolées aussi à partir des aliments

laitiers toxiques (Šimonovičová et al., 2015; Lee et al., 2016). *Aspergillus cejpii* nommée aussi *Dichotomomyces cejpii*, est un champignon connu pour ses propriétés de résistance à la chaleur, puisqu'il est capable de survivre à une température de 70°C pendant 60 min, et a un effet inhibiteur important sur certaines bactéries résistantes aux médicaments (Chen et *al*., 2017; Samson et *al*., 2014). *Chaetothyriales sp. AR-2010* peut être trouvée sur des surfaces rocheuses dans des climats chauds et arides, et dans des niches toxiques avec des hydrocarbures et des métaux lourds (Teixeira et *al*., 2017).

V.1.3 Classe *Sordariomycetes*

La classe des *Sordariomycetes* est représentée par 7 OTUs et 57 séquences, dont 2 OTUs appartiennent à *Xylariales* et *uncultured Ascomycota* non cultivables et 5 OTUs ont une similarité avec : *Pseudolachnea fraxini :* Nommé d'après l'hôte sur lequel il a été collecté, Fraxinus (Crous et *al*., 2012).

Chordomyces antarcticum : Sont des champignons filamenteuses qui peuvent survivre dans un milieu à des valeurs de pH élevées allant de 8 à 11, et qui ont été isolées à partir des sols sodiques (Grum-Grzhimaylo et *al*., 2016).

Eutypella vitis a été prélevée à partir de jeunes pousses de vignes (Dissanayake et *al*., 2021) aussi associée au dépérissement des branches des arbres (Ilyukhin et *al*., 2021).

Fusarium acuminatum a été isolée à partir des gingembres infectés (*Zinziber officinale*), et a été utilisée pour la synthèse des nanoparticules comme l'argent et représente une activité antibactérienne efficace contre des bactéries multi-résistantes et hautement pathogènes, telles que *Staphylococcus aureus, Salmonella typhi, Staphylococcus epidermidis* et *Escherichia coli* (Ingle et *al*., 2008). En 2021, la synthèse de nouveaux nanoparticules comme l'or, le platine, la silice, le palladium ont été étudiées (Rai et *al.*, 2021).

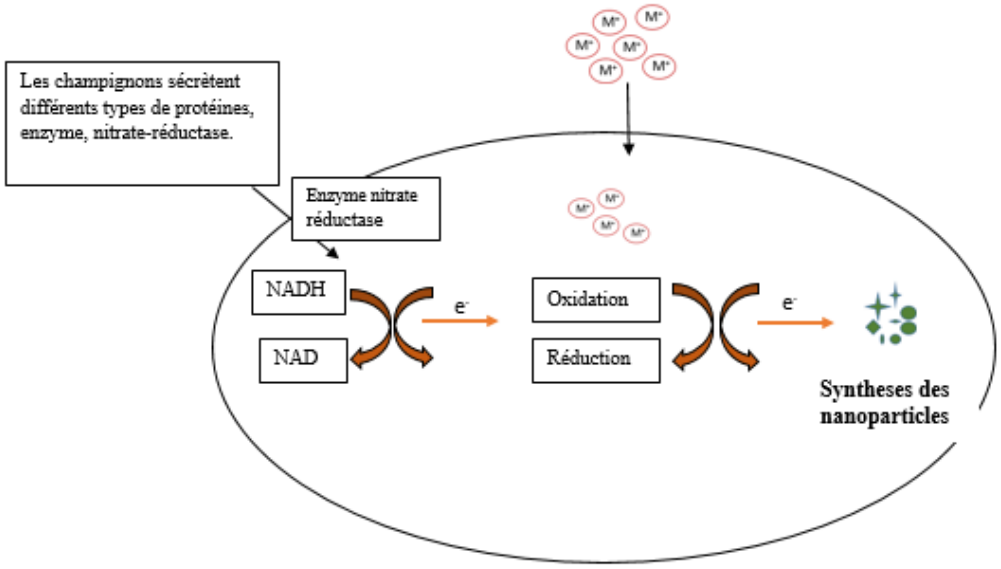


Figure 36: Mécanisme de synthèse de nanoparticules à l'aide de champignons

Des auteurs (Ingle et *al*., 2008; Khandel and Shahi, 2018) ont démontré le mécanisme général impliqué dans la synthèse, la croissance et la stabilisation des nanoparticules métalliques en utilisant le champignon Fusarium (figure 36). Les auteurs ont rapporté le rôle de la NADPH-nitrate réductase dans la biosynthèse des nanoparticules d'argent, agissant en tant que transporteur d'électrons généré pendant la réduction du nitrate en ions Ag+, les convertissant en Ag0.

V.1.4 Classe *Leotiomycetes*

Leotiomycetes représentés par 2 OTUs et 18 séquences affiliées à l'ordre *Helotiales* et appartenant à deux genres *Chalara*et *Tricellula,* qui ont une similarité de 97% avec *Chalara cylindrosperma* connue sous le nom de *Menispora cylindrosperma*, retrouvée sur le bois mort, l'écorce, les feuilles et les fruits de divers arbres feuillus et sur les tiges et feuilles mortes d'herbacées (Geobotanica, 2022), et avec *Tricellula aquatica* qui a été collectée à partir des feuilles immergées dans l'eau (Webster, 1959).

V.1.5 Classe des *Saccharomycetes*

Les *Saccharomycetes* sont représentés par 1 OTU et 14 séquences affiliées au genre *Pichia* qui a une similarité avec *Pichia kudriavzevii.* Ce champignon est présent en abondance dans l'environnement, surtout dans le sol et les fruits, mais aussi dans les boissons fermentées, et est capable de produire des bio-floculats qui peuvent être utiliser pour le traitement des eaux usées,

puisqu'ils ont permis l'élimination de la DCO et la DBO, l'azote total et le phosphore (Tsilo et *al.*, 2022).

V.2 Phylum *Basidiomycota*

Le phylum de *Basidiomycota* représente le deuxième plus grand phylum des champignons. Il existe environ 35 000 espèces connues et jouant un rôle essentiel dans le cycle du carbone et le mécanisme des nutriments minéraux des écosystèmes terrestres (Nagy and Szöllősi, 2017; Watkinson, 2008).

Ce phylum est représenté par 4 OTUs et 110 séquences, affilié à une seule classe *Agaricomycetes* appartenant à trois ordres *Polyporales*, *Hymenochaetales* et *Russulales*. Ils ont une similarité avec *Porostereum spadiceum* qui a été utilisée pour la décoloration des eaux usées (Choi et *al*., 2014). *Efibula clarkii* est associée à la pourriture blanche (Floudas and Hibbett, 2015). *Peniophora incarnata* est un champignon de pourriture blanche (Nunes and Kunamneni, 2018), et responsable de la dégradation des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) (Lee et *al*., 2015). *Xylodon sambuci* est principalement un décomposeur de bois, provoquant une pourriture blanche des angiospermes et des gymnospermes (Yurchenko and Wu, 2014). Il joue un rôle important dans l'écosystème en tant que champignon de pourriture blanche, considéré comme un agent de bioremédiation pour recycler le carbone dans la nature par la minéralisation de la lignine (Cho et *al*., 2021).

VI. La Symbiose des micro-organismes dans les boues activées

Les procédés de traitement biologique utilisant des boues activées dans des conditions aérobies permettent aux micro-organismes de se mélanger au lixiviat et de réagir avec les matières biodégradables présents dans l'effluent, et de les utiliser comme source de nutriments. Notre communauté microbienne est composée de bactéries, de champignons, de micro-algues et de protozoaires.

Ces micro-organismes se regroupent entre eux pour former un bio-floc. L'interaction entre ces micro-organismes peut être qualifiée selon qu'ils sont bénéfiques ou non les uns pour les autres. Puisque les bactéries constituent le groupe le plus dominant de notre boue, donc nous devons comprendre la relation symbiotique entre ces bactéries et les autres groupes.

VI.1 Bactéries - Micro algues

Les micro-algues agissent comme des micro-organismes photosynthétiques, produisant de l'oxygène et assurant l'élimination des polluants (azote, phosphore et carbone). L'interaction entre les micro-algues et les bactéries assure une élimination efficace du carbone organique et inorganique, de l'azote, du phosphore, des métaux lourds et d'autres polluants. Du fait de cette interaction, la minéralisation de la matière organique par les bactéries aérobies produit le carbone inorganique nécessaire aux micro-algues. A son tour, l'O_2 nécessaire à la dégradation bactérienne est produit par la photosynthèse des micro-algues (Mhedhbi et *al.*, 2020).

Les bactéries peuvent facilement réduire la DCO et produire du carbone inorganique adapté au processus de photosynthèse des micro-algues. Le CO2 produit par l'oxydation bactérienne est une source de carbone pour la photosynthèse des algues, par exemple *Acinetobacter*, la bactérie aérobie qui peut éliminer la DCO, oxyde la source de carbone organique en CO_2 pour la croissance des algues (Mhedhbi et *al*., 2020; Qi et *al*., 2021). Selon Parakh et *al*., (2019), l'oxygène produit par les micro-algues pendant la journée peut être consommé la nuit par les bactéries hétérotrophes qui dégradent la matière organique dans les eaux usées.

Différentes études ont rapporté des résultats positifs en utilisant le consortium Bactérie - Micro-algue pour éliminer efficacement du phosphore et les métaux lourds (Alcántara et al., 2015; Mujtaba and Lee, 2016; Hernández-García et *al*., 2019; Okurowska et *al*., 2021).

VI.2 Bactéries – Protozoaires

Selon la littérature, l'excrétion de nutriments minéraux par les protozoaires entraîne une utilisation accélérée de la source de carbone par les bactéries (Coleman et *al*., 1978; Ratsak et *al*., 1996). En outre, les protozoaires excrètent des composés stimulant la croissance qui peuvent renforcer l'activité bactérienne (Madoni, 2011).

Dans notre système de traitement, nous avons également des protozoaires tels que des **ciliés, des flagellés et des amibes**. Parmi les *eucaryotes*, les ciliés étant le groupe le plus abondants dans notre boue. Curds, (1973) a fait des observations similaires. En outre, les études qui ont été menées sur ces micro-organismes ont indiqué que les ciliés sont connus pour leur symbiose avec les autres micro-organismes, en particulier les bactéries (Dziallas et *al*., 2012; Mironov and Sabaneyeva, 2020).

Les ciliés sont fréquemment colonisés par des bactéries qui, à leur tour, fournissent une oxydation du soufre à leurs hôtes ciliés (Dziallas et *al*., 2012; Rosenberg et *al*., 2014). En outre Pajdak-Stós et al., (2017) ont constaté que dans le traitement biologique des eaux usées les ciliées se nourrissent de bactéries, en réduisant les bactéries dispersées et en améliorant la floculation, et interviennent aussi dans la réduction de la production excessive de boues.

De même, les amibes servent de niche pour la réplication bactérienne (Schulz et *al*., 2015).

VI.3 Bacteries – Champignons

Selon Niu et al., (2017), la moisissure *Penicillium* peut produire l'antibiotique pénicilline, ce qui peut contribuer à la lutte contre les bactéries pathogènes dans les boues activées.

Aspergillus spp, pourrait éliminer les contaminants par adsorption à la surface des cellules, ainsi que par dégradation enzymatique.

Les bactéries l'emportent sur les champignons dans le bioréacteur, car les champignons sont des eucaryotes et leur taux de croissance est donc intrinsèquement beaucoup plus lent que celui des bactéries et les champignons préfèrent un environnement acide, contrairement à la plupart des bactéries (Spennati, 2018).

VII. L'élimination de la DCO

l'élimination de la DCO se fait principalement par oxydation aérobie de la matière organique (Caballero, 2011). Les bactéries utilisent la DCO comme source organique pour sa croissance, ce qui explique la performance de notre réacteur dans l'élimination de la DCO, avec un pourcentage élevé, jusqu'à 98%. Dans notre réacteur nous avons *Truepera, Urania-1B-19_marine_sediment_group, Pichia kudriavzevii,* responsables de l'élimination de la DCO (Shan et *al.*, 2017; Tsilo et *al*., 2022).

VIII.L'élimination de la forme azotée

L'élimination de la forme azotée repose sur deux processus, la nitrification et la dénitrification. La nitrification joue un rôle très important dans l'élimination de l'azote de l'eau. Elle se déroule en deux phases, la transformation de l'ammonium en nitrite, effectuée par les bactéries du genre *Nitrosomonas*, qui utilisent le CO_2 comme source de carbone et oxydent l'ammoniac (NH_3) en nitrite (NO_2) et la deuxième phase, la transformation du nitrite (NO_2) en

nitrate (NO_3), réalisée par les bactéries oxydant le nitrite Nitrobacter (Thakur and Medhi, 2019; Zhang et *al*., 2019a) . Dans notre réacteur, nous avons identifié d'autres micro-organismes qui favorisent le processus de nitrification, tels que *Thauera, Delftia, Limnobacter, Methylotenera, Comamonas, Thiobacillus, Azoarcus, Herminiimonas, Alcaligenes, Vogesella, Aquabacterium, Lautropia. SM1A02*, ce qui explique le taux élevé de l'élimination de l'ammonium jusqu'à 97,61%.

La dénitrification exige l'absence totale ou présence de l'oxygène, dont les responsables de cette réaction sont des *Pseudomonas*. Dans notre réacteur nous avons des espèces capables de réduire **le nitrate en condition aérobie,** tels que, *Thauera, Nitrosomonas, Delftia, Limnobacter, Methylotenera, Comamonas, Thiobacillus, Azoarcus, Herminiimonas, Alcaligenes, Vogesella, Aquabacterium, Lautropia. Rhodobacter*, Aliidiomarina, *Uncultured Sulfurimonas sp*. *Arcobacter, Sulfurimonas* et *Sulfurovum.*

Cependant, dans la dénitrification aérobie, l'oxygène et le nitrate sont utilisés simultanément comme accepteurs d'électrons par les bactéries (Kania, 2019; Wang and Shao, 2021). L'élimination des nitrates en condition aérobie (chapitre 3, page 111) constitue l'un des principaux avantages de notre procédé de traitement, surtout que nous avons observé une augmentation de la concentration des nitrates dans notre réacteur (chapitre 1, page 70).

IX.Elimination des métaux lourds

L'élimination des métaux lourds dans notre réacteur est due à la diversité des microorganismes de notre boue, qui ont la capacité de l'éliminations des métaux lourds tel que, les microorganismes affiliés aux ***Zixibacteria.*** Ce phylum contient des microorganismes qui se caractérisent par leur capacité à oxyder et réduire du fer et de l'arsenic (Castelle and Banfield, 2018; Garber et *al*., 2020).

Nous avons aussi trouvé l'espèce *Navicula salinicola*, qui se caractérise par une forte efficacité de l'élimination du Pb et du Cr (Elleuch et *al*., 2021). *Cladosporium cladosporioides* adsorbe efficacement le Cu (II) (do Carmo et *al*., 2013). *Cladosporium herbarum* a une grande capacité d'accumulation de Cu^{2+}, Pb^{2+}, et Zn^{2+} (Bieńkowski et *al*., 2004). *Aspergillus versicolor* est capable d'accumuler des métaux lourds tels que le chrome (VI), le cuivre (II) et le nickel (Taştan et *al*., 2010) et *Penicillium polonicum* qui se caractérise par l'élimination du Pb(II) (Xu et *al*., 2020).

Selon Pagnanelli et *al*., (2009) les micro-organismes des boues activées peuvent éliminer les métaux lourds par différents mécanismes, qui peuvent être classés en fonction de leur dépendance à l'activité métabolique.

Le premier mécanisme est la **bioaccumulation** qui est un processus complexe d'élimination des métaux au niveau des cellules vivantes. Le processus se fait en deux étapes : la première étant l'absorption du métal à la surface de la cellule, par liaison extracellulaire. La deuxième étape est un mécanisme relativement lent responsable de la pénétration/transport des ions métalliques dans la membrane cellulaire, connu sous le nom de liaison intracellulaire.

Le deuxième mécanisme c'est la **biosorption** est un mécanisme rapide d'absorption des métaux à la surface des cellules, connue sous le nom de liaison extracellulaire (Dodbiba et *al.*, 2015; Hansda et *al*., 2016; Diep et *al*., 2018).

X.Elimination des ions PO_4

Acinetobacter et *Pseudomonas spp* sont connues comme les plus grands accumulateurs de phosphate utilisé pour leur croissances (Jeon et *al*., 2003; Sidat et *al*., 1999), de même la présence de *Pichia kudriavzevii* a permis l'élimination du phosphore. Ceci pourrait expliquer le taux élevé de l'élimination de l'orthophosphate des lixiviats dans notre réacteur. Les micro-organismes absorbent l'orthophosphate en utilisant l'énergie provenant de l'oxydation de la matière organique par le nitrate ou l'oxygène dissous et le convertissent en poly-phosphate, qui est stocké dans leur cellule (Merzouki., 2001; Seviour et *al*., 2003; Curtin et *al*., 2011)

XI.L'élimination de sulfate

Les bactéries sulfato-réductrices (BSR) sont un groupe de micro-organismes qui utilisent le sulfate comme accepteur terminal d'électrons et d'énergie pour leur croissance. Ces bactéries sont strictement anaérobies (Tran et *al*., 2021).

Cependant, Notre réacteur a éliminé 82,80 % de sulfate, ce qui montre que nous avons des micro-organismes sulfato-réducteurs. Ceci pourrait être expliqué par le fait que ces micro-organismes ont résisté dans des conditions aérobies. D'après (Cypionka, 2000), les BSR se caractérisent par une flexibilité avec l'environnement, ce qui permet d'augmenter leurs possibilités de survie lorsque les conditions environnementales changent.

Les bactéries sulfato-réductrices que nous avons identifiées dans notre bioréacteur, favorisent l'élimination du sulfate comme : *Desulfocapsa sulfexigens*, *Desulfobacteraceae bacterium enrichment culture clone MS_ANT_U12*, *Rubinisphaera sp. Bacterium enrichment culture clone AOM-SR-B11*, *Zixibacteria*.

Conclusion

Dans le but d'étudier la population microbienne de notre boue activée, pour avoir une vision plus large de la communauté microbienne qui y domine, nous avons procédé par une extraction de l'ADN métagénomique. Les analyses ont révélé la présence d'une communauté microbienne diversifiée au sein du bioréacteur majoritairement représentée par différents groupes :

Le Domaine *Bacteria* : le groupe le plus dominant, présenté par 29 phylums dont les 10 groupes majeurs dominants dans le bioréacteur sont :

- *Protéobactéries* (65%), sont des micro-organismes connus pour leur rôle de nitrification et de dénitrification des lixiviats en condition aérobies et de leur capacité de dégrader la matière organique et de réduire le sulfate.
- *Deinococcus-Thermus* (9,49 %) connu par son efficacité dans l'élimination de la DCO.
- *Planctomycetes* (6,48 %) responsables de l'élimination du sulfate, de nitrate et de la DCO.
- *Bacteroidetes* (6,16 %) qui peuvent dégrader les matières organiques des lixiviats.
- *Actinobacteria* (4,63%), sont des bactéries filamenteuses qui ont été impliquées dans la floculation afin de traiter les eaux usées.
- Chloroflexi (3,14 %) qui sont caractérisés par leur rôle nitrifiant. *Firmicutes* (0,98 %) prouvant leur capacité à éliminer la DCO des lixivats. *Nitrospirae (*0,75%), qui jouent un rôle nitrifiant dans les environnements à faible teneur en oxygène. *Epsilonbacteraeota* (0,61 %) qui ont un rôle de dénitrification, et *Acidobacteria* (0,59 %) qui sont affiliés aux micro-organismes non cultivés.

Domaine des Eukarya : *re*présenté par 21 phylums, dont les 10 groupes majeurs dominants dans le bioréacteur étudié sont :

- *Ciliophora* (75,46%), se caractérise par une capacité à résister aux métaux lourds et a été utilisé pour évaluer la toxicité et la biodisponibilité des métaux lourds dans des boues activées d'une station d'épuration ;
- *Choanozoa* (15,85%) qui est un groupe de prédateurs qui se nourrissent sur des proies *Eucaryotes*.
- *Uncultured eukaryote* (5,42 %).
- *Chytridiomycota* (1,68 %) contribuant à la dégradation des matières organiques,
- *Cercozoa* (0,62%) qui est trouvé dans un réacteur à boue anaérobie et aérobie.
- *Amoebozoa* (0,56%) jouant un rôle important en tant que prédateur primaire des bactéries dans le sol et dans l'eau douce, ainsi jouent le rôle écologique important dans le contrôle des bactéries environnementales.
- *Chlorophyta* (0,09%) est une micro-algue qui joue un rôle important dans l'élimination du nitrate et du phosphate.
- *Uncultured soil eukaryote* 0,08 % sont des micro-organismes non cultivables.

En ce qui concerne **les *champignons***, ils sont représentés par deux phyla :

- *Ascomycota, qui* sont connus pour leur rôle majeur dans l'élimination des métaux lourds, aussi bien que dans l'élimination de la DCO et la DBO_5, de l'azote total et du phosphore.
- *Basidiomycota* jouant un rôle important dans l'écosystème en tant que champignons responsables de pourriture blanche, et considérés comme des agents de bio-remédiation pour recycler le carbone.

Conclusion générale

Nous adressons nos remerciements au Ministère marocain chargé du développement durable pour sa contribution financière et pour la réussite de notre projet. Nous tenons également à remercier la Commune de Fès, et principalement le groupe ECOMED pour son soutien technique et financier tout au long de la réalisation du projet à l'échelle pilote, en particulier le personnel de la décharge publique contrôlée de la ville de Fès.

Le système de traitement proposé, composé d'un réacteur séquentiel discontinu fonctionnant dans des conditions aérobies couplé à un système physique utilisant une filtration sur colonne garnie avec des cendres volantes, a montré une grande capacité d'élimination des lixiviats. Il a permis une réduction de 100% de la DBO5, 98% de la DCO, 78% du NO_2, NTK 96% et 100% des MES. Ce système de traitement a éliminé tous les germes de contamination fécale et les germes pathogènes, de sorte que le lixiviat traité avec le système pourrait être utilisé en irrigation puisqu'il répond aux normes marocaines de rejet. Les résultats obtenus montrent une biodégradation significative par les microorganismes dans le système RSD. Par ailleurs, la haute performance du système de traitement, notamment la colonne de filtration, est due à l'efficacité des cendres volantes, dont la matrice silico-alumineuse dépasse 94% en termes de silice, aluminium et fer. Ces derniers contribuent à la neutralisation des charges négatives des paramètres chimiques et adsorbent les matières organiques et les germes microbiens.

Les résultats de l'élimination de la DCO, la DBO5, le NTK, le NH4, le NO_2, le NO_3, les PO_4 et le SO_4 sous différents cycles par jour, montre que les taux d'abattement sont très similaires. On constate que l'effluent à chaque point de traitement dans le bioréacteur présente une biodégradation similaire ou très proche par les micro-organismes. En raison d'une biomasse adaptée (forte acclimatation) à l'effluent, cette décomposition très proche se développe même avec deux cycles.

Le traitement des effluents de lixiviation par bio-augmentation en utilisant *B. cereus, B. thuringiensis, B. proteolyticus, Myroides sp. LoEW2-1, B. subtilis, B. mojavensis, B. licheniformis, B. halotolerans* inoculés à différentes concentrations bactériennes (2%, 4%, et 6%) a montré la grande capacité de dépollution des lixiviats par ces bactéries. De plus, la résistance de ces souches à la DCO ainsi qu'au Cr, Fe, Zn et Ni a été démontrée. En outre, ces souches ont donné des taux d'abattement plus élevés à la concentration de 2% pour l'élimination de la DCO et les métaux lourds, qui ont dépassé 96%. De plus, toutes les concentrations

bactériennes utilisées de 2%, 4%, et 6% ont donné un taux de réduction comparable pour les quatre métaux. Le but de cet isolement c'est de les utiliser dans le traitement des lixiviats à l'échelle pilote par bio-augmentation. Après que nous avons ensemencé notre réacteur par ces 8 souches, la bio-augmentation à l'échelle pilote en trois jours nous a permis d'aboutir à des taux d'abattement satisfaisants de la DCO (41%), la DBO5 (54%), NH4 (73 %), NTK (82%) et PO_4 (77%).

Concernant la deuxième partie relative à la bio-augmentation, nous avons isolé des micro-organismes à partir de la boue de notre réacteur, et nous avons obtenu 7 souches capables de reduire la DCO à l'échelle pilote, un taux d'abattement qui varie entre 81% et 98%. Après avoir ensemencé notre réacteur par ces souches, la bio-augmentation en trois jours nous a permis d'aboutir à des taux d'abattement satisfaisants de la DCO (96,07%), la DBO5 (98,4%), NH4 (97,61 %), NTK (72 ,61%) et PO_4 (87,7%). Nous avons également réussi à avoir une dénitrification en condition aérobie

D'après ces résultats nous constatons que la bio-augmentation a amélioré la performance à l'échelle pilote. Ces souches peuvent constituer une excellente alternative au traitement physico-chimique des lixiviats et on peut dire que la bio-augmentation est une option attrayante pour le traitement des lixiviats.

En outre, la métagénomique nous a permis de déterminer les microorganismes qui ont joué un rôle dans le traitement des lixiviats dans notre réacteur séquentiel discontinu à l'échelle pilote. Ce travail de recherche est original à l'échelle nationale.

Groupe des *Bactéries* : le groupe le plus dominant, présenté par 29 phylum dont les 10 groupes majeurs dominants dans notre bioréacteur : *Protéobactéries* (65%), sont des micro-organismes connus pour leur rôle de nitrification et de dénitrification des lixiviats en condition aérobie et la capacité de dégrader la matière organique et réduire le sulfate. Le *Deinococcus-Thermus* (9,49 %) pour l'élimination de la DCO, *Planctomycetes* (6,48 %) pour l'élimination de sulfate, de nitrate et de la DCO. Les *Bacteroidetes* (6,16 %) peuvent dégrader les matières organiques des lixiviats. Les *Actinobacteria* (4,63%), sont des bactéries filamenteuses qui ont été impliquées dans la floculation afin de traiter les eaux usées. Les Chloroflexi (3,14 %) sont caractérisés par leur rôle nitrifiant. *Firmicutes* (0,98 %) ont prouvé leur capacité à éliminer la DCO des lixivats. Les *Nitrospirae (*0,75%) sont des bactéries jouant un rôle nitrifiant dans les environnements à faible teneur en oxygène. Les *Epsilonbacteraeota* (0,61 %) ont un rôle de dénitrification, et *Acidobacteria* (0,59 %) sont affiliés à des micro-organismes non cultivés.

Le groupe *Eucaryotes :* présenté par 21 phylum, dont 10 groupes sont majeurs et dominants dans notre bioréacteur, *Ciliophora* (75,46%), se caractérise par une capacité à résister aux métaux lourds et qui a été utilisé pour évaluer la toxicité et la biodisponibilité des métaux lourds dans des boues activées d'une station d'épuration. Les *Choanozoa* (15,85%) sont des prédateurs et se nourrissent des proies *Eucaryotes*. *Uncultured eukaryote* représentent (5,42 %). *Chytridiomycota* (1,68 %) contribuent à la dégradation des matières organiques, et les *Cercozoa* (0,62%) qui se trouvent dans un réacteur à boue anaérobie et aérobie. *Amoebozoa* (0,56%) jouant un rôle important en tant que prédateur primaire des bactéries dans le sol et dans l'eau douce, ainsi qu'un rôle écologique important dans le contrôle des bactéries environnementales. *Chlorophyta* (0,09%) est une micro-algue qui joue un rôle important dans l'élimination du nitrate et du phosphate. *Uncultured soil eukaryote* 0,08 % sont des micro-organismes non encore cultivés.

En ce qui concerne les *champignons*, ils se composent de deux phyla, *Ascomycota,* connus pour leur rôle majeur de l'élimination des métaux lourds ainsi que l'élimination de la DCO et DBO_5, l'azote total (N) et le phosphore. *Basidiomycota* joue un rôle important dans l'écosystème en tant que champignon de pourriture blanche, et considéré comme un agent de bio-remédiation pour recycler le carbone.

Avec ces résultats, notre système de traitement est original à l'échelle nationale, il pourrait être utilisé pour le traitement de la totalité des lixiviats de la décharge de Fès, et aussi d'autres décharges publiques contrôlées des autres villes Marocaines. Ce choix aurait plusieurs avantages, principalement, la fiabilité, la pérennité et l'économie en termes d'investissement et d'exploitation à grande échelle, par comparaison avec d'autres systèmes conventionnels. Ce choix aurait des impacts positifs en apportant une solution définitive et adéquate aux problèmes de gestion des lixiviats au niveau des décharges contrôlées au Maroc.

Perspectives

Nous avons pu atteindre nos objectifs, mais plusieurs travaux pourraient être effectués afin de compléter ce travail tels que :

- Traitment des boues soutirées,
- Identification moléculaires des souches isolées à partir de la boue,
- L'isolement des micro-organismes identifiés par métagénomique, qui ont joué un rôle dans le traitement des lixiviats au niveau du réacteur séquentiel discontinu à l'échelle pilote, et l'étude de leur activité métabolique,
- Faire des cultures pures par bio-augmentation et ensemencer notre réacteur afin d'augmenter la rentabilité de notre système dans le traitement des lixiviats de la décharge contrôlée de la ville de Fès.
- Nous aspirons à une analyse en short gun métagénomique de grande ampleur qui permettra de séquencer l'ensemble de l'ADN métagénomique, nous pouvons ainsi détecter tous les microorganismes ainsi que les gènes de fonction dans notre échantillon. Ce type de séquençage est onéreux, mais très intéressant quant à l'analyse fonctionnel, en attendant d'avoir une plateforme nationale de séquençage à haut débit, efficace et de coût modéré.

Références bibliographiques

Ben aakame R, Benammi F, Nouari N, et al. Guide Des Analyses Physico-Chimiques Des Eaux Destinées à La Consommation Humaine. 2019.

Abbou M Ben, Haji M El and Zemzami M. Impact Des Lixiviats de La Décharge Sauvage de La Ville de Taza Sur Les Ressources Hydriques (Maroc). Afrique Sci Rev Int des Sci Technol 2014;10(1):171–180.

Abdul Aziz H, Alias S, Adlan MN, et al. Colour Removal from Landfill Leachate by Coagulation and Flocculation Processes. Bioresour Technol 2007;98(1):218–220; doi: 10.1016/j.biortech.2005.11.013.

Abed H, Esamil A, Barrahi M, et al. Evaluation Analytique de La Qualité Microbiologique Des Eaux de Lixiviats de La Décharge Publique de Kénitra. Int J Innov Appl Stud 2014;7(3):1225–1231.

Abraham JS, Sripoorna S, Maurya S, et al. Techniques and Tools for Species Identification in Ciliates: A Review. Int J Syst Evol Microbiol 2019;69(4):877–894; doi: 10.1099/ijsem.0.003176.

Adamiec P, Benezet J and Benhassaine A. Pozzolanic Reactivity of Silico-Aluminous Fly Ash. 2008;6:93–98; doi: 10.1016/j.partic.2007.09.003.

Adams F V., Peter A, Joseph I V., et al. Purification of Crude Oil Contaminated Water Using Fly Ash/Clay. J Water Process Eng 2019;30(November 2016):0–1; doi: 10.1016/j.jwpe.2017.08.009.

Adeolu AO, Ada O V, Gbenga AA, et al. Assessment of Groundwater Contamination by Leachate near a Municipal Solid Waste Landfill. African J Environ Sci Technol 2011;5(11):933–940; doi: 10.5897/AJEST11.272.

AECOM Tecsult inc. Chapitre 9 - Impacts Pour La Santé Reliés Aux Lieux d'enfouissement Technique. 2010.

Agamuthu P and Fauziah SH. Heavy Metal Pollution in Landfill Environment A Malaysian Case Study. 2010 4th Int Conf Bioinforma Biomed Eng iCBBE 2010 2010;1–4; doi: 10.1109/ICBBE.2010.5516886.

Agarry SE. Bioelectricity Generation and Treatment of Petroleum Refinery Effluent by *Bacillus Cereus* and *Clostridium Butyricum* Using Microbial Fuel Cell Technology. Niger J Technol 2017;36(2):543; doi: 10.4314/njt.v36i2.30.

Agunbiade MO, Pohl CH and Ashafa AOT. A Review of the Application of Bioflocculants in Wastewater Treatment. Polish J Environ Stud 2016;25(4):1381–1389; doi: 10.15244/pjoes/61063.

Aissam H. Etude de La Biodégradation Des Effluents Des Huileries (Margines) et Leur Valorisation Par Production de l'enzyme Tannase. 2003.

Al-Aboodi AH, Ibrahim HT and Abbas SA. Performance of Sequencing Batch Reactor (Sbr) for Domestic Wastewater Treatment under Low Temperature in Basrah City (South of Iraq). Int J Civ Eng Technol 2017;8(6):787–796.

Albers SV and Siebers B. Le Phylum Synergistetes. 2014.; doi: 10.1007/978-3-642-38954-

2_329.

Alcántara C, Posadas E, Guieysse B, et al. Microalgae-Based Wastewater Treatment. Handb Mar Microalgae Biotechnol Adv 2015;439–455; doi: 10.1016/B978-0-12-800776-1.00029-7.

Amakdouf H, Merzouki M, Belhassan H, et al. Performance of Sequential Batch Reactor Coupled to Physical System for Landfill Leachate Treatment : A Pilot Scale Design. 2021;2:79–90; doi: 10.22104/AET.2021.5034.1365.

Amakdouf H, Merzouki M, El Karkouri A, et al. Bioaugmentation Process for the Treatment of Leachate Collected from Controlled Landfills in Fez City-Morocco. Int J Environ Stud 2022;00(00):1–13; doi: 10.1080/00207233.2021.2017194.

Amor C, Torres-Socías E De, Peres JA, et al. Mature Landfill Leachate Treatment by Coagulation/Flocculation Combined with Fenton and Solar Photo-Fenton Processes. J Hazard Mater 2015;286:261–268; doi: 10.1016/j.jhazmat.2014.12.036.

Anantharaman K, Hausmann B, Jungbluth SP, et al. Expanded Diversity of Microbial Groups That Shape the Dissimilatory Sulfur Cycle. ISME J 2018;12(7):1715–1728; doi: 10.1038/s41396-018-0078-0.

Andreasen M, Skrede I, Jaklitsch WM, et al. Multi-Locus Phylogenetic Analysis of Lophiostomatoid Fungi Motivates a Broad Concept of Lophiostoma and Reveals Nine New Species. Persoonia Mol Phylogeny Evol Fungi 2021;46:240–271; doi: 10.3767/persoonia.2021.46.09.

Artan N, Wilderer P, Orhon D, et al. The Mechanism and Design of Sequencing Batch Reactor Systems for Nutrient Removal - The State of the Art. Water Sci Technol 2001;43(3):53–60; doi: 10.2166/wst.2001.0118.

Asma A and Naima S. Caractérisation et Traitement Des Lixiviats Issu de Centre d’enfouissement Technique de La Ville de Bouira Présenté. 2015.

Association des Enseignants des Sciences de la Vie et de la Terre. Gestion Des Déchets Ménagers Au Maroc: Vers Un Nouveau Modèle de Gestion Des Déchets Ménagers et Assimilés Au Maroc. 2019.

Assress HA, Selvarajan R, Nyoni H, et al. Diversity, Co-Occurrence and Implications of Fungal Communities in Wastewater Treatment Plants. Sci Rep 2019;9(1):1–15; doi: 10.1038/s41598-019-50624-z.

Ayangbenro AS and Babalola OO. Genomic Analysis of Bacillus Cereus NWUAB01 and Its Heavy Metal Removal from Polluted Soil. Sci Rep 2020;1–12; doi: 10.1038/s41598-020-75170-x.

Aziz SQ, Aziz HA, Yusoff MS, et al. Landfill Leachate Treatment Using Powdered Activated Carbon Augmented Sequencing Batch Reactor (SBR) Process: Optimization by Response Surface Methodology. J Hazard Mater 2011;189(1–2):404–413; doi: 10.1016/j.jhazmat.2011.02.052.

Backhouse TC and Bolliger A. Australian Marsupial Trichosurus. 1987;41(1):435–464; doi: 10.1146/annurev.mi.41.100187.002251.

Bajpai P. Environmental Impact. 2018.; doi: 10.1016/B978-0-12-814238-7.00015-5.

Bakhshoodeh R, Alavi N, Oldham C, et al. Constructed Wetlands for Landfill Leachate Treatment: A Review. Ecol Eng 2020;146(May 2019); doi: 10.1016/j.ecoleng.2020.105725.

Baldisserotto C, Sabia A, Giovanardi M, et al. Chlorophyta Microalgae as Dietary Protein Supplement: A Comparative Analysis of Productivity Related to Photosynthesis. J Appl Phycol 2022;34(3):1323–1340; doi: 10.1007/s10811-022-02724-z.

Bao DF, Su HY, Maharachchikumbura SSN, et al. Lignicolous Freshwater Fungi from China and Thailand: Multi-Gene Phylogeny Reveals New Species and New Records in Lophiostomataceae. Mycosphere 2019;10(1):1080–1099; doi: 10.5943/mycosphere/10/1/20.

Bass D and Cavalier-Smith T. Phylum-Specific Environmental DNA Analysis Reveals Remarkably High Global Biodiversity of Cercozoa (Protozoa). Int J Syst Evol Microbiol 2004;54(6):2393–2404; doi: 10.1099/ijs.0.63229-0.

Baumgartner A, Thurnheer T, Lüthi-Schaller H, et al. The Phylum Synergistetes in Gingivitis and Necrotizing Ulcerative Gingivitis. J Med Microbiol 2012;61(PART 11):1600–1609; doi: 10.1099/jmm.0.047456-0.

Bazerli A and Esnault L. Les Procèdes de Concentration Des Effluents Aqueux État de l'art. 2013.

Benani SM and Messaoudi I. Contribution à l'étude de La Biodégradation Des Lixiviats Par Les Processus de La Phytoremédiation. 2021.

Berland J-M and Juery C. Les Procédés Membranaires Pour Le Traitement de l'eau. Doc Tech FNDAE 2002;4:1–71.

Berman JJ. Gamma Proteobacteria. Taxon Guid to Infect Dis 2012;37–47; doi: 10.1016/b978-0-12-415895-5.00007-6.

Bernat K and Wojnowska-Baryła I. Carbon Source in Aerobic Denitrification. Biochem Eng J 2007;36(2):116–122; doi: 10.1016/j.bej.2007.02.007.

Bernat K, Zaborowska M, Zielińska M, et al. Biological Treatment of Leachate from Stabilization of Biodegradable Municipal Solid Waste in a Sequencing Batch Biofilm Reactor. Int J Environ Sci Technol 2021;18(5):1047–1060; doi: 10.1007/s13762-020-02915-6.

BET hydroprotec consult. Strategie et Plan de Communication PNDM. 2012.

Beulen A. Etude Du Dioxyde de Carbone, Du Méthane et Du Protoxyde d'azote Dans 4 Cours d'eau En Wallonie et Variabilité Longitudinale Dans l'Ourthe. 2011.

Bieńkowski P, Bajan C, Popowska-Nowak E, et al. Effect of Selected Heavy Metal Ions on Growth and Bioaccumulation of Four Isolates of the Species Cladosporium Herbarum. Chem i Inżynieria Ekol 2004;Vol. 11, n:61–69.

Birchler BDR, Milke MW, Marks AL, et al. LANDFILL LEACHATE TREATMENT BY EVAPORATION. 1995;120(5):1109–1131.

Biyada S. Procédés de Traitement Des Lixiviats. 2015a.

Biyada S. Traitement Des Lixiviats de La Décharge Publique Contrôlée de La Ville Fès Par Voies Biologique et Physique. 2015b;212(35):2014–2015.

Boateng TK, Opoku F and Akoto O. Heavy Metal Contamination Assessment of Groundwater Quality: A Case Study of Oti Landfill Site, Kumasi. Appl Water Sci 2019;9(2):1–15; doi: 10.1007/s13201-019-0915-y.

Borrel G. Diversité Des Archées et Implication de La Composante Procaryote Dans Le Cycle Biogéochimique Du Méthane En Milieu Aquatique Continental : Études Taxonomiques et Fonctionnelles Dans La Colonne d'eau et Les Sédiments Anoxiques Du Lac Pavin. 2011.

Bouaiche zakaria. La Modélisation de La Production Du Biogaz à Partir Des Déchets Solides et La Valorisation de Cette Production En Énergie Électrique. 2018.

Bouchet C. Traitement Des Lixiviats: Des Effluents Complexes Qui Nécessitent Un Traitement Poussé. Eau, l'Industrie, les Nuisances 2014;(371):49–63.

Bouchez A, Dorigo U and Rimet FA. Surveillance Des Impacts Environnementaux d'effluents Aqueux de Sites Industriels Par Les Diatomées Dulçaquicoles. 2010;(n°07-1016/1A):175.

Bouklouze A, Elacadi. A, Serragui, et al. Travaux Pratiques Toxicologie Analytique. 2009.

Van Den Brand TPH, Roest K, Chen GH, et al. Adaptation of Sulfate-Reducing Bacteria to Sulfide Exposure. Environ Eng Sci 2016;33(4):242–249; doi: 10.1089/ees.2015.0208.

Brose U. Estimating Species Richness of Pitfall Catches by Non-Parametric Estimators. 2002;107:101–107.

Brune A. Elusimicrobia. Bergey's Man Syst Archaea Bact 2018;469(1996):1–3; doi: 10.1002/9781118960608.pbm00034.

Caballero AR. Study of Bacterial Communities. 2011.

Calderan A. Contribution Au Suivi de La Biodiversité Pluriannuelle Des Pollinisateurs et Évaluation Du Service de Pollinisation Au Sein de Quatre Micro-Habitats Situés En Exploitation Agricole Agro-Écologique. 2018.

Campbell CD, Warren A, I CMC, et al. Direct Toxicity Assessment of Two Soils Amended with Sewage Sludge Contaminated with Heavy Metals Using a Protozoan (Colpoda Steinii) Bioassay. 1997;34(3):501–514.

Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, et al. Correspondence QIIME Allows Analysis of High- Throughput Community Sequencing Data Intensity Normalization Improves Color Calling in SOLiD Sequencing. Nat Publ Gr 2010;7(5):335–336; doi: 10.1038/nmeth0510-335.

Carlos Augusto da Costa A and Pereira Duta F. Bioaccumulation of Copper, Zinc, Cadmium and Lead By Bacillus Sp., Bacillus Cereus, Bacillus Sphaericus and Bacillus Subtilis. Brazilian J Microbiol 2001;32:1–5.

do Carmo JR, Pimenta CJ, da Silva JF, et al. Recovery of Copper (II) Absorbed in Biomass of Cladosporium Cladosporioides. Sci Agric 2013;70(3):147–151; doi: 10.1590/S0103-90162013000300002.

Carrier R. Programme de Subventions En Santé Communautaire ! ; ! 1993.

Cassano A and Basile A. Integrating Different Membrane Operations and Combining Membranes with Conventional Separation Techniques in Industrial Processes. Woodhead Publishing Limited; 2013.; doi: 10.1533/9780857097347.1.296.

Castelle CJ and Banfield JF. Major New Microbial Groups Expand Diversity and Alter Our Understanding of the Tree of Life. Cell 2018;172(6):1181–1197; doi: 10.1016/j.cell.2018.02.016.

Cavalier-Smith T, Chao EE and Lewis R. 187-Gene Phylogeny of Protozoan Phylum Amoebozoa Reveals a New Class (Cutosea) of Deep-Branching, Ultrastructurally Unique, Enveloped Marine Lobosa and Clarifies Amoeba Evolution. Mol Phylogenet Evol 2016;99:275–296; doi: 10.1016/j.ympev.2016.03.023.

Cavalier-Smith T and Chao EEY. Phylogeny of Choanozoa, Apusozoa, and Other Protozoa and Early Eukaryote Megaevolution. J Mol Evol 2003;56(5):540–563; doi: 10.1007/s00239-002-2424-z.

Cavinato C, Ugurlu A, de Godos I, et al. Biogas Production from Microalgae. Elsevier Ltd.; 2017.; doi: 10.1016/B978-0-08-101023-5.00007-8.

CEAEQ. Détermination de La Conductivité : Méthode Électrométrique. Ministère du Développement durable, l'Environnement la Lutte contre les Chang Clim 2015;08(révision 1):1–9.

Champion C. Développement et Étude Mathématique d'algorithmes d'analyse En Clusters d'interactions de Données Métgénomiques En Biomédecine. 2021.

Chao A. Estimating the Number of Classes Via Sample Coverage. 2014;(May); doi: 10.1080/01621459.1992.10475194.

Chao A. Chao A , Ma MC , Yang MCK .. Stopping Rules and Estimation for Recapture Debugging with Unequal Failure Rates . Biometrika 80 : 193-201. 2015;(September):193–201; doi: 10.1093/biomet/80.1.193.

Chao A. Non-Parametric Estimation of the Classes in a Population. 2018;(January 1984); doi: 10.2307/4615964.

Chen D, Wang D, Xiao Z, et al. Nitrate Removal in a Combined Bioelectrochemical and Sulfur Autotrophic Denitrification System under High Nitrate Concentration: Effects of PH. Bioprocess Biosyst Eng 2018;41(4):449–455; doi: 10.1007/s00449-017-1879-7.

Chen Q and Ni J. Heterotrophic Nitrification-Aerobic Denitrification by Novel Isolated Bacteria. J Ind Microbiol Biotechnol 2011;38(9):1305–1310; doi: 10.1007/s10295-010-0911-6.

Chen Y, Wang C, Dong S, et al. Microbial Community Assembly in Detergent Wastewater Treatment Bioreactors: Influent Rather than Inoculum Source Plays a More Important Role. Bioresour Technol 2019;287(March):121467; doi: 10.1016/j.biortech.2019.121467.

Chen YX, Xu MY, Li HJ, et al. Diverse Secondary Metabolites from the Marine-Derived Fungus Dichotomomyces Cejpii F31-1. Mar Drugs 2017;15(11):3–15; doi: 10.3390/md15110339.

Chibani sana. Analyses Physico-Chimique et Rhéologique Des Boues d'épuration Des Eaux Usées de La Ville de Guelma. 2010.

Cho Y, Kim JS, Dai YC, et al. Taxonomic Evaluation of Xylodon (Hymenochaetales, Basidiomycota) in Korea and Sequence Verification of the Corresponding Species in GenBank. PeerJ 2021;9:1–19; doi: 10.7717/peerj.12625.

Choi YS, Seo JY, Lee H, et al. Decolorization and Detoxification of Wastewater Containing Industrial Dyes by Bjerkandera Adusta Kuc9065. Water Air Soil Pollut 2014;225(1); doi: 10.1007/s11270-013-1801-0.

Chouari R, Le Paslier D, Daegelen P, et al. Molecular Evidence for Novel Planctomycete

Diversity in a Municipal Wastewater Treatment Plant. Appl Environ Microbiol 2003;69(12):7354–7363; doi: 10.1128/AEM.69.12.7354-7363.2003.

Chtioui H, Khalil F, Souabi S, et al. Evaluation de La Pollution Générée Par Les Lixiviats de La Décharge Publique de La Ville de Fès. Déchets, Sci Tech 2008;(49):25–28; doi: 10.4267/dechets-sciences-techniques.1435.

Cole JR. Spirochetes. Diagnostic Proced Vet Bacteriol Mycol 1990;41–60; doi: 10.1016/b978-0-12-161775-2.50009-8.

Coleman DC, Cole C V., Hunt HW, et al. Trophic Interactions in Soils as They Affect Energy and Nutrient Dynamics. Microb Ecol 1978;4(4):345–349; doi: 10.1007/BF02013277.

Colwell RK and Coddington JA. Colwell RK , Coddington JA .. Estimating Terrestrial Biodiversity through Estimating Terrestrial Biodiversity through Extrapolation. 1994;(May 2014):101–118; doi: 10.1098/rstb.1994.0091.

Conover WJ. Practical Nonparametric Statistics. Third Edit. Wiley; 2008.

Correa-Galeote D, Roibás A, Mosquera-Corral A, et al. Salinity Is the Major Driver of the Global Eukaryotic Community Structure in Fish-Canning Wastewater Treatment Plants. J Environ Manage 2021;290(October 2020); doi: 10.1016/j.jenvman.2021.112623.

Costa AM, Alfaia RG de SM and Campos JC. Landfill Leachate Treatment in Brazil – An Overview. J Environ Manage 2019;232(April 2018):110–116; doi: 10.1016/j.jenvman.2018.11.006.

Crous PW and Groenewald JZ. Paraconiothyrium Hakeae. Persoonia 2017;38:274–275.

Crous PW, Schumacher RK, Wingfield MJ, et al. Fungal Systematics and Evolution: FUSE 1. 2015.; doi: 10.12905/0380.sydowia67-2015-0081.

Crous PW, Verkley GJM, Christensen M, et al. How Important Are Conidial Appendages? Persoonia Mol Phylogeny Evol Fungi 2012;28:126–137; doi: 10.3767/003158512X652624.

Cumar SKM and Nagaraja B. Environmental Impact of Leachate Characteristics on Water Quality. Environ Monit Assess 2011;178(1–4):499–505; doi: 10.1007/s10661-010-1708-9.

Curds CR. The Role of Protozoa in the Activated-Sludge Process. Integr Comp Biol 1973;13(1):161–169; doi: 10.1093/icb/13.1.161.

CURINI-GAI.I.E.ITI MC and MARTENS PM. Karyological and Ecological Evolution of the Monocelididae (Platyhelminthes, Proseriaia). 1990;1(3):255–261.

Curtin KNRE and GD, Duerre S, Fitzpatrick B, et al. Biological Nutrient Removal. 2011.

Cycoń M, Mrozik A and Piotrowska-Seget Z. Bioaugmentation as a Strategy for the Remediation of Pesticide-Polluted Soil: A Review. Chemosphere 2017;172:52–71; doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.12.129.

Cypionka H. Oxygen Respiration by Desulfovibrio Species. 2000.

Dalberg Advisors, Wit team comprised of W de, Hamilton A, et al. Stop the Flood of Plastic. 2019.

Data S, Explained A, Environmental A, et al. Applied Environmental Statistics with R. 2008.

David G. Mann, Richard M. Crawford and FER. Bacillariophyta. 2017.; doi: 10.1007/978-3-

319-28149-0.

DeBruyn JM, Nixon LT, Fawaz MN, et al. Global Biogeography and Quantitative Seasonal Dynamics of Gemmatimonadetes in Soil. Appl Environ Microbiol 2011;77(17):6295–6300; doi: 10.1128/AEM.05005-11.

Deeg CM, Zimmer MM, George EE, et al. Chromulinavorax Destructans, a Pathogen of Microzooplankton That Provides a Window into the Enigmatic Candidate Phylum Dependentiae. PLoS Pathog 2019;15(5):1–18; doi: 10.1371/journal.ppat.1007801.

Dehdashti B, Amin MM and Chavoshani A. Other Trace Elements (Heavy Metals) and Chemicals in Aquatic Environments. INC; 2020.; doi: 10.1016/b978-0-12-818612-1.00006-4.

Deja-Sikora E, Gołębiewski M, Kalwasińska A, et al. Comamonadaceae OTU as a Remnant of an Ancient Microbial Community in Sulfidic Waters. Microb Ecol 2019;78(1):85–101; doi: 10.1007/s00248-018-1270-5.

Deng Y and Englehardt JD. Treatment of Landfill Leachate by the Fenton Process. Water Res 2006;40(20):3683–3694; doi: 10.1016/j.watres.2006.08.009.

Deng Y and Englehardt JD. Electrochemical Oxidation for Landfill Leachate Treatment. Waste Manag 2007;27(3):380–388; doi: 10.1016/j.wasman.2006.02.004.

Département du développement durable. 18 Ème Commission Du Développement Durable Intervention de La Délégation Marocaine. 2010.

Detho A, Daud Z, Rosli MA, et al. Cod and Ammoniacal Nitrogen Reduction from Stabilized Landfileachate Using Carbon Mineral Composite Adsorbent. Desalin Water Treat 2021;210:143–151; doi: 10.5004/dwt.2021.26500.

Díaz S, Martín-González A and Carlos Gutiérrez J. Evaluation of Heavy Metal Acute Toxicity and Bioaccumulation in Soil Ciliated Protozoa. Environ Int 2006;32(6):711–717; doi: 10.1016/j.envint.2006.03.004.

Diep P, Mahadevan R and Yakunin AF. Heavy Metal Removal by Bioaccumulation Using Genetically Engineered Microorganisms. Front Bioeng Biotechnol 2018;6(OCT); doi: 10.3389/fbioe.2018.00157.

Digby AL, Gleason FH and McGee PA. Some Fungi in the Chytridiomycota Can Assimilate Both Inorganic and Organic Sources of Nitrogen. Fungal Ecol 2010;3(3):261–266; doi: 10.1016/j.funeco.2009.11.002.

Direction de la réglementation et du contentieux. Loi N° 28-00 Relative à La Gestion Des Déchets et à Leur Élimination. 2006.

Direction de la réglementation et du contentieux. Loi N° 23-12 Relative à La Gestion Des Déchets et à Leur Élimination. 2012.

Dissanayake LS, Wijayawardene NN, Dayarathne MC, et al. Paraeutypella Guizhouensis Gen. et Sp. Nov. and Diatrypella Longiasca Sp. Nov. (Diatrypaceae) from China. Biodivers Data J 2021;9:1–25; doi: 10.3897/BDJ.9.E63864.

Dodbiba G, Ponou J and Fujita T. Biosorption of Heavy Metals. Microbiol Miner Met Mater Environ 2015;409–426; doi: 10.4018/978-1-5225-8903-7.ch077.

Ducorps E. Synthese Technique Reacteur Biologique Sequentiel Retours D ’ Experience. 2009;(33):20.

Durban N, Juzan L, Krier J, et al. Traitement Du Foisonnement Filamenteux Dû à Microthrix Parvicella Par Ajout de Sels Métalliques. 2013.

Dutta A and Sarkar S. Sequencing Batch Reactor for Wastewater Treatment: Recent Advances. Curr Pollut Reports 2015;1(3):177–190; doi: 10.1007/s40726-015-0016-y.

Dziallas C, Allgaier M, Monaghan MT, et al. Act Together-Implications of Symbioses in Aquatic Ciliates. Front Microbiol 2012;3(AUG):1–17; doi: 10.3389/fmicb.2012.00288.

ECOMED. Valoriser Nos Déchets Pour Un Développement Durable. 2012. Available from: https://www.ecomed.ma/qui-somme-nous/.

Edgar RC. UPARSE: Highly Accurate OTU Sequences from Microbial Amplicon Reads. Nat Methods 2013;10(10):996–998; doi: 10.1038/nmeth.2604.

El-Fadel M, Bou-Zeid E and Chahine W. Landfill Evolution and Treatability Assessment of High-Strength Leachate from MSW with High Organic and Moisture Content. Int J Environ Stud 2003;60(6):603–615; doi: 10.1080/0020723032000069187.

El-Gohary FA and Kamel G. Characterization and Biological Treatment of Pre-Treated Landfill Leachate. Ecol Eng 2016;94:268–274; doi: 10.1016/j.ecoleng.2016.05.074.

Elkarrach K, Merzouki M, Atia F, et al. C. Bioresour Technol Reports 2021;14(November 2020); doi: 10.1016/j.biteb.2021.100663.

Elleuch J, Hmani R, Drira M, et al. Potential of Three Local Marine Microalgae from Tunisian Coasts for Cadmium, Lead and Chromium Removals. Sci Total Environ 2021;799; doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.149464.

Emenike CU, Fauziah SH and Agamuthu P. Characterization and Toxicological Evaluation of Leachate from Closed Sanitary Landfill. Waste Manag Res 2012;30(9):888–897; doi: 10.1177/0734242X12443585.

Escapa C, Coimbra RN, Paniagua S, et al. Nutrients and Pharmaceuticals Removal from Wastewater by Culture and Harvesting of Chlorella Sorokiniana. Bioresour Technol 2015;185:276–284; doi: 10.1016/j.biortech.2015.03.004.

Esnault A. Les Procédés de Concentration Des Effluents Aqueux, Thèse de Doctorat, Université Record. 2013;1–145.

Evans TN and Seviour RJ. Estimating Biodiversity of Fungi in Activated Sludge Communities Using Culture-Independent Methods. Microb Ecol 2012;63(4):773–786; doi: 10.1007/s00248-011-9984-7.

EL Fadel H. Traitement Chimique Par Coagulation-Floculation, Biologique Par Sbr et Physique Par Filtration Des Lixiviats de La Decharge Publique Controlee de La Ville de Fes. 2013.

Faouzi M, Merzouki M, El Fadel H, et al. Le Procédé RSD: Une Solution Efficace et Économique Pour Dépolluer Les Effluents de La Compagnie Des Boissons Gazeuses Du Nord de Fès (Maroc). J Eur d'Hydrologie 2008;39(2):181–198.

Farag IF, Youssef NH and Elshahed MS. Global Distribution Patterns and Pangenomic Diversity of the Candidate Phylum "Latescibacteria" (WS3). 2017.; doi: 10.1128/AEM.00521-17.

Faust MA. Three New Benthic of Prorocentrum (Dinophyceae) from Twin Cays, Belize:

P.Maculosum Sp.Nov., P.Foraminosum Sp.Nov. and P.Formosum Sp.Nov. Phycologia 1993;32(6):410–418; doi: 10.2216/i0031-8884-32-6-410.1.

Federation WE. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 1999.; doi: 10.2105/AJPH.51.6.940-a.

Felföldi T, Fikó RD, Mentes A, et al. Quisquiliibacterium Transsilvanicum Gen. Nov., Sp. Nov., a Novel Betaproteobacterium Isolated from a Waste-Treating Bioreactor. Int J Syst Evol Microbiol 2017;67(11):4742–4746; doi: 10.1099/ijsem.0.002368.

Feng P, Chang H, Liu X, et al. The Significance of Dispersion of Nano-SiO2 on Early Age Hydration of Cement Pastes. Mater Des 2020;186:108320; doi: 10.1016/j.matdes.2019.108320.

Fernandes H, Jungles MK, Hoffmann H, et al. Full-Scale Sequencing Batch Reactor (SBR) for Domestic Wastewater: Performance and Diversity of Microbial Communities. Bioresour Technol 2013;132:262–268; doi: 10.1016/j.biortech.2013.01.027.

Ferrer-Polonio E, Pérez-Uz B, Mendoza-Roca JA, et al. Biological Treatment of Hypersaline Wastewater from Table Olive Processing: Process Performance and Protist Population under Different Operating Conditions. J Ind Eng Chem 2017;56:364–374; doi: 10.1016/j.jiec.2017.07.033.

Fisher E, Dawson AM, Polshyna G, et al. Transformation of Inorganic and Organic Arsenic by Alkaliphilus Oremlandii Sp. Nov. Strain OhILAs. Ann N Y Acad Sci 2008;1125:230–241; doi: 10.1196/annals.1419.006.

Floudas D and Hibbett DS. Revisiting the Taxonomy of Phanerochaete (Polyporales, Basidiomycota) Using a Four Gene Dataset and Extensive ITS Sampling. Fungal Biol 2015;119(8):679–719; doi: 10.1016/j.funbio.2015.04.003.

Foissner W. Protists as Bioindicators in Activated Sludge: Identification, Ecology and Future Needs. Eur J Protistol 2016;55:75–94; doi: 10.1016/j.ejop.2016.02.004.

Fukuhara S. A Basis for the Space of Modular Forms. 2012.; doi: 10.4064/aa151-4-5.

G. Rizzatti, L. R. Lopetuso, G. Gibiino, C. Binda and AG. Proteobacteria: A Common Factor in Human Diseases. Front Microbiol 2020;12(1):1–9.

Gabarró J, Hernández-del Amo E, Gich F, et al. Nitrous Oxide Reduction Genetic Potential from the Microbial Community of an Intermittently Aerated Partial Nitritation SBR Treating Mature Landfill Leachate. Water Res 2013;47(19):7066–7077; doi: 10.1016/j.watres.2013.07.057.

Gao R, Zheng J, Lu W, et al. Shinella Oryzae Sp. Nov., a Novel Zearalenone-Resistant Bacterium Isolated from Rice Paddy Soil. Antonie van Leeuwenhoek, Int J Gen Mol Microbiol 2022;115(5):573–587; doi: 10.1007/s10482-022-01724-w.

Garber AI, Nealson KH, Okamoto A, et al. FeGenie: A Comprehensive Tool for the Identification of Iron Genes and Iron Gene Neighborhoods in Genome and Metagenome Assemblies. Front Microbiol 2020;11(January):1–23; doi: 10.3389/fmicb.2020.00037.

Garcia-Ruiz MJ, Muñoz-Palazon B, Gonzalez-Lopez J, et al. Performance and Microbial Community Structure of an Anammox Biofilter Treating Real Wastewater from a Sludge Return. J Environ Chem Eng 2021;9(3); doi: 10.1016/j.jece.2021.105211.

Geobotanica F. Lignicolous Hyphomycetes from Czechoslovakia 7 . Chalara , Exochalara , Fusichalara and Dictyochaeta Author (s): Věra Holubová-Jechová Published by : Springer Stable URL : Https://Www.Jstor.Org/Stable/4180545 Lignicolous Hyphomycetes from Czechoslovakia. 2022;19(4):387–438.

Getty TA, Peterson JW, Fujioka H, et al. Colpodella Sp. (Atcc 50594) Life Cycle: Myzocytosis and Possible Links to the Origin of Intracellular Parasitism. Trop Med Infect Dis 2021;6(3); doi: 10.3390/tropicalmed6030127.

Ghosh A, Mehta A and Khan AM. Metagenomic Analysis and Its Applications. Encycl Bioinforma Comput Biol ABC Bioinforma 2018;1–3:184–193; doi: 10.1016/B978-0-12-809633-8.20178-7.

GIZ. Essais de Caractérisation Des Déchets Ménagers et Assimilés Réalisés Au Maroc. 2012.

Gladieux P, Byrnes EJ, Aguileta G, et al. Epidemiology and Evolution of Fungal Pathogens in Plants and Animals. First Edit. Elsevier Inc.; 2011.; doi: 10.1016/B978-0-12-384890-1.00004-2.

Glandier S. Risques Sanitaires Lies Aux Fuites de Lixiviats Des Centres de Stockage de Dechets Menagers et Assimiles. 2002.

Godfred A. Traitement de Lixiviat Par Voie Biologique. Mémoire stage fin d'études Trait Fac des Sci Tétouan 2017;70.

Gohatre OK, Biswal M, Mohanty S, et al. Study on Thermal, Mechanical and Morphological Properties of Recycled Poly(Vinyl Chloride)/Fly Ash Composites. Polym Int 2020;69(6):552–563; doi: 10.1002/pi.5988.

Good IJ. The Population Frequencies of Species and the Estimation of Population Parameters. Biometrika 1953;40(3/4):237; doi: 10.2307/2333344.

Gouache D, Hourcade D, Lebrun M, et al. Evaluation de La Résistance Du Blé à La Septoriose Provoquée Par Mycosphaerella Graminicola. 2020.

Goulet V. Introduction à La Programmation En R. 2012.

Graham ED and Tully BJ. Marine Dadabacteria Exhibit Genome Streamlining and Phototrophy-Driven Niche Partitioning. ISME J 2021;15(4):1248–1256; doi: 10.1038/s41396-020-00834-5.

Grisey E. Impact de l'évolution Des Déchets d'une Installation de Stockage de Déchets Non Dangereux Sur l'environnement. Thèse Dr 2013;214(25):210.

Grisey E. Impact de l ' Évolution Des Déchets d ' Une Installation de Stockage de Déchets Non Dangereux Sur l'environnement - Site d ' Étude : L ' ISDND d ' Etueffont (Territoire de Belfort - France). 2015.

Grisey E, Belle E, Dat J, et al. Survival of Pathogenic and Indicator Organisms in Groundwater and Landfill Leachate through Coupling Bacterial Enumeration with Tracer Tests. Desalination 2010;261(1–2):162–168; doi: 10.1016/j.desal.2010.05.007.

Grum-Grzhimaylo AA, Georgieva ML, Bondarenko SA, et al. On the Diversity of Fungi from Soda Soils. Fungal Divers 2016;76(1):27–74; doi: 10.1007/s13225-015-0320-2.

Grunditz C and Dalhammar G. Development of Nitrification Inhibition Assays Using Pure Cultures of Nitrosomonas and Nitrobacter. Water Res 2001;35(2):433–440; doi:

10.1016/S0043-1354(00)00312-2.

Gupta SK, Ramakrishnan A and Hung YT. Sequencing Batch Reactors. Handb Environ Waste Manag Air Water Pollut Control 2012;511–562; doi: 10.1142/9789814327701_0014.

Hale H, Gardner EM, Viruel J, et al. Strategies for Reducing Per-Sample Costs in Target Capture Sequencing for Phylogenomics and Population Genomics in Plants. Appl Plant Sci 2020;8(4):1–10; doi: 10.1002/aps3.11337.

Hamamoto Y and Honda D. Nutritional Intake of Aplanochytrium (Labyrinthulea, Stramenopiles) from Living Diatoms Revealed by Culture Experiments Suggesting the New Prey–Predator Interactions in the Grazing Food Web of the Marine Ecosystem. PLoS One 2019;14(1):1–23; doi: 10.1371/journal.pone.0208941.

Hamid Yazdani, Abbas Khoshhal and Nayereh S. Mousavi. Evaluating the Performance of a Sequencing Batch Reactor for Sanitary Wastewater Treatment Using Artificial Neural Network. Environ Prog Sustain Energy 2020;39(6); doi: 10.1002/ep.13438.

Hamidi AA, Bashir MJK and Mojiri A. Assessment of Various Tropical Municipal Landfill Leachate Characteristics and Treatment Opportunities. Glob NEST J 2015;17(X):439–450.

Handelsman J, Rondon MR, Brady SF, et al. Molecular Biological Access to the Chemistry of Unknown Soil Microbes: A New Frontier for Natural Products. Chem Biol 1998;5(10); doi: 10.1016/S1074-5521(98)90108-9.

Hanrahan-tan DG, Henderson L, Kertesz MA, et al. The Effects of Nitrogen and Phosphorus on Colony Growth and Zoospore Characteristics of Soil Chytridiomycota. J Fungi 2022;8(4); doi: 10.3390/jof8040341.

Hansda A, Kumar V and Anshumali. A Comparative Review towards Potential of Microbial Cells for Heavy Metal Removal with Emphasis on Biosorption and Bioaccumulation. World J Microbiol Biotechnol 2016;32(10):1–14; doi: 10.1007/s11274-016-2117-1.

Hao L, McIlroy SJ, Kirkegaard RH, et al. Novel Prosthecate Bacteria from the Candidate Phylum Acetothermia. ISME J 2018;12(9):2225–2237; doi: 10.1038/s41396-018-0187-9.

Hara RBO. Species Richness Estimators : How Many Species Can Dance on the Head of a Pin ? 2005;68:375–386; doi: 10.1111/j.1365-2656.2005.00940.x.

Harper MA, Cassie Cooper V, Chang FH, et al. Phylum Ochrophyta: Brown and Golden-Brown Algae, Diatoms, Silicoflagellates, and Kin. New Zeal Invent biodiversity Vol Three Kingdoms Bact Protozoa, Chromista, Plantae, Fungi 2012;(November 2019):114–163.

Hartel PG. Microbial Processes. Microb Process 1979;448–455; doi: 10.17226/9544.

Hawa A and Prachasaree W. The Development of Compressive Strength, Drying Shrinkage and Microstructure of Fly Ash Geopolymer with Field Para Rubber Latex. Rev Rom Mater Rom J Mater 2020;50(1):59–68.

He F, Lin B, Sun JZ, et al. Knufia Aspidiotus Sp. Nov., a New Black Yeast from Scale Insects. Phytotaxa 2013;153(1):39–50; doi: 10.11646/phytotaxa.153.1.2.

He P, Chen L, Shao L, et al. Municipal Solid Waste (MSW)Landfill: A Source of Microplastics? -Evidence of Microplastics in Landfill Leachate. Water Res 2019;159:38–45; doi: 10.1016/j.watres.2019.04.060.

Hehenberger E, Tikhonenkov D V., Kolisko M, et al. Novel Predators Reshape Holozoan

Phylogeny and Reveal the Presence of a Two-Component Signaling System in the Ancestor of Animals. Curr Biol 2017;27(13):2043-2050.e6; doi: 10.1016/j.cub.2017.06.006.

Hernández-García A, Velásquez-Orta SB, Novelo E, et al. Wastewater-Leachate Treatment by Microalgae: Biomass, Carbohydrate and Lipid Production. Ecotoxicol Environ Saf 2019;174(August 2018):435–444; doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.02.052.

Herrero M and Stuckey DC. Bioaugmentation and Its Application in Wastewater Treatment: A Review. Chemosphere 2015;140:119–128; doi: 10.1016/j.chemosphere.2014.10.033.

Hira D, Aiko N, Yabuki Y, et al. Impact of Aerobic Acclimation on the Nitrification Performance and Microbial Community of Landfill Leachate Sludge. J Environ Manage 2018;209:188–194; doi: 10.1016/j.jenvman.2017.12.056.

Hiraishi A, Muramatsu K and Urata K. Characterization of New Denitrifying Rhodobacter Strains Isolated from Photosynthetic Sludge for Wastewater Treatment. J Ferment Bioeng 1995;79(1):39–44; doi: 10.1016/0922-338X(95)92741-T.

Hirakata Y, Hatamoto M, Oshiki M, et al. Temporal Variation of Eukaryotic Community Structures in UASB Reactor Treating Domestic Sewage as Revealed by 18S RRNA Gene Sequencing. Sci Rep 2019;9(1):1–11; doi: 10.1038/s41598-019-49290-y.

Hoek EMV, Allred J, Knoell T, et al. Modeling the Effects of Fouling on Full-Scale Reverse Osmosis Processes. J Memb Sci 2008;314(1–2):33–49; doi: 10.1016/j.memsci.2008.01.025.

Hoque MA, Haque MA and Mondal MSA. Seasonal Effects on Heavy Metal Concentration in Decomposed Solid Waste of DNCC and DSCC Landfill Sites. Civ Eng Archit 2014;2(1):52–56; doi: 10.13189/cea.2014.020106.

Hu D, Zang Y, Mao Y, et al. Identification of Molecular Markers That Are Specific to the Class Thermoleophilia. Front Microbiol 2019;10(MAY):1–13; doi: 10.3389/fmicb.2019.01185.

Hu Z and Grasso D. Water Analysis - Chemical Oxygen Demand. Encycl Anal Sci Second Ed 2004;325–330; doi: 10.1016/B0-12-369397-7/00663-4.

Huang JM and Wang Y. Genomic Differences within the Phylum Marinimicrobia: From Waters to Sediments in the Mariana Trench. Mar Genomics 2020;50(28):100699; doi: 10.1016/j.margen.2019.100699.

Hug LA, Thomas BC, Sharon I, et al. Critical Biogeochemical Functions in the Subsurface Are Associated with Bacteria from New Phyla and Little Studied Lineages. Environ Microbiol 2016;18(1):159–173; doi: 10.1111/1462-2920.12930.

Hussein H, Ibrahim SF, Kandeel K, et al. Biosorption of Heavy Metals from Waste Water Using Pseudomonas Sp. Electron J Biotechnol 2004;7(1):45–53; doi: 10.2225/vol7-issue1-fulltext-2.

Hussein M, Yoneda K, Mohd-Zaki Z, et al. Heavy Metals in Leachate, Impacted Soils and Natural Soils of Different Landfills in Malaysia: An Alarming Threat. Chemosphere 2021;267:128874; doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.128874.

Igiri BE, Okoduwa SIR, Idoko GO, et al. Toxicity and Bioremediation of Heavy Metals Contaminated Ecosystem from Tannery Wastewater: A Review. J Toxicol 2018;2018; doi: 10.1155/2018/2568038.

Ilyukhin E, Bulgakov T and Markovskaja S. First Record of Eutypella Vitis Causing Branch

Dieback on New Host Trees in Canada. Stud Fungi 2021;6(1):71–77; doi: 10.5943/sif/6/1/3.

Im WT, Jung HM, Ten LN, et al. Deinococcus Aquaticus Sp. Nov., Isolated from Fresh Water, and Deinococcus Caeni Sp. Nov., Isolated from Activated Sludge. Int J Syst Evol Microbiol 2008;58(10):2348–2353; doi: 10.1099/ijs.0.64082-0.

Impe WF Van and Bouazza A. Barrières d'étanchéité Dans Les Sites de Décharges : Développements Récents. 1996;3–18.

Ingle A, Gade A, Pierrat S, et al. Mycosynthesis of Silver Nanoparticles Using the Fungus Fusarium Acuminatum and Its Activity Against Some Human Pathogenic Bacteria. Curr Nanosci 2008;4(2):141–144; doi: 10.2174/157341308784340804.

Irvine RL and Ketchum LH. Sequencing Batch Reactors for Biological Wastewater Treatment. Crit Rev Environ Control 1989;18(4):255–294; doi: 10.1080/10643388909388350.

Ishak AR, Mohamad S, Soo TK, et al. Leachate and Surface Water Characterization and Heavy Metal Health Risk on Cockles in Kuala Selangor. Procedia - Soc Behav Sci 2016;222:263–271; doi: 10.1016/j.sbspro.2016.05.156.

Ittisupornrat S, Phetrak A, Theepharaksapan S, et al. Effect of Prolonged Sludge Retention Times on the Performance of Membrane Bioreactor and Microbial Community for Leachate Treatment under Restricted Aeration. Chemosphere 2021;284(November 2020):131153; doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.131153.

Jagaba AH, Kutty SRM, Lawal IM, et al. Sequencing Batch Reactor Technology for Landfill Leachate Treatment: A State-of-the-Art Review. J Environ Manage 2021;282(September 2020):111946; doi: 10.1016/j.jenvman.2021.111946.

Jala S and Goyal D. Fly Ash as a Soil Ameliorant for Improving Crop Production - A Review. Bioresour Technol 2006;97(9):1136–1147; doi: 10.1016/j.biortech.2004.09.004.

Jang JG and Lee HK. Effect of Fly Ash Characteristics on Delayed High-Strength Development of Geopolymers. Constr Build Mater 2016;102:260–269; doi: 10.1016/j.conbuildmat.2015.10.172.

Jeon CO, Lee DS and Park JM. Microbial Communities in Activated Sludge Performing Enhanced Biological Phosphorus Removal in a Sequencing Batch Reactor. Water Res 2003;37(9):2195–2205; doi: 10.1016/S0043-1354(02)00587-0.

Jeyanny V, Norlia B, Getha K, et al. Bacterial Communities in a Newly Regenerated Mangrove Forest of Sungai Haji Dorani Mangroves in the West Coast of Selangor, Malaysia. J Trop For Sci 2020;32(3):268–282; doi: 10.26525/JTFS2020.32.3.268.

Jia L, Jiang B, Huang F, et al. Nitrogen Removal Mechanism and Microbial Community Changes of Bioaugmentation Subsurface Wastewater Infiltration System. Bioresour Technol 2019;294(July); doi: 10.1016/j.biortech.2019.122140.

Jiang HB, Jeewon R, Karunarathna SC, et al. Reappraisal of Immotthia in Dictyosporiaceae, Pleosporales: Introducing Immotthia Bambusae Sp. Nov. and Pseudocyclothyriella Clematidis Comb. et Gen. Nov. Based on Morphology and Phylogeny. Front Microbiol 2021;12(May):1–17; doi: 10.3389/fmicb.2021.656235.

Jianlong W and Ning Y. Partial Nitrification under Limited Dissolved Oxygen Conditions. 2004;39(2):1223–1229; doi: 10.1016/S0032-9592(03)00249-8.

Jin PK, Yang ZR, Li R, et al. Characteristics of Denitrification Inhibiting Sulfate Reducing Process. Huanjing Kexue/Environmental Sci 2017;38(5):1982–1990; doi: 10.13227/j.hjkx.201611097.

Jirou Y, Harrouni MC, Belattar M, et al. Traitement Des Lixiviats de La Décharge Contrôlée Du Grand Agadir Par Aération Intensive. Rev Marocaine des Sci Agron Vétérinaires 2014;2(2):59–69.

Jobby R, Jha P, Yadav AK, et al. Biosorption and Biotransformation of Hexavalent Chromium [Cr(VI)]: A Comprehensive Review. Chemosphere 2018;207(Vi):255–266; doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.05.050.

Jurczyk L, Koc-Jurczyk J and Maslon A. Simultaneous Stripping of Ammonia from Leachate: Experimental Insights and Key Microbial Players. Water (Switzerland) 2020;12(9); doi: 10.3390/w12092494.

Kadnikov V V., Mardanov A V., Beletsky A V., et al. Phylogeny and Physiology of Candidate Phylum BRC1 Inferred from the First Complete Metagenome-Assembled Genome Obtained from Deep Subsurface Aquifer. Syst Appl Microbiol 2019;42(1):67–76; doi: 10.1016/j.syapm.2018.08.013.

Kania M. Caractérisation Des Dépôts de Surface Des Filtres Plantés de Roseaux à Écoulement Vertical . Rôle et Évolution de La Matière Organique Particulaire To Cite This Version : HAL Id : Tel-02068009 Caractérisation Des Dépôts de Surface Des Filtres Plantés de R. 2019.

El Karkouri A and identification of an actinomycete strain with a biocontrol effect on the phytopathogenic E chrysanthemi 3937VIII responsible for soft rot disease, El Hassani FZ, El Mzibri M, et al. Isolation and Identification of an Actinomycete Strain with a Biocontrol Effect on the Phytopathogenic Erwinia Chrysanthemi 3937VIII Responsible for Soft Rot Disease. Ann Microbiol 2010;60(2):263–268; doi: 10.1007/s13213-010-0036-1.

Kastali M, Mouhir L, Madinzi A, et al. Reducing Pollution of Stabilized Landfill Leachate by Mixing of Coagulants and Flocculants: A Comparative Study. Environ Manag [Working Title] 2021;(July); doi: 10.5772/intechopen.97253.

Katayama T, Nobu MK, Kusada H, et al. Isolation of a Member of the Candidate Phylum ‘Atribacteria’ Reveals a Unique Cell Membrane Structure. Nat Commun 2020;11(1):1–9; doi: 10.1038/s41467-020-20149-5.

Keyikoglu R, Karatas O, Rezania H, et al. A Review on Treatment of Membrane Concentrates Generated from Landfill Leachate Treatment Processes. Sep Purif Technol 2021;259(December 2020):118182; doi: 10.1016/j.seppur.2020.118182.

Khandel P and Shahi SK. Mycogenic Nanoparticles and Their Bio-Prospective Applications: Current Status and Future Challenges. J Nanostructure Chem 2018;8(4):369–391; doi: 10.1007/s40097-018-0285-2.

Kheirabadi M, Mahmoodi R, Mollania N, et al. Fast Chromium Removal by Shewanella Sp.: An Enzymatic Mechanism Depending on Serine Protease. Int J Environ Sci Technol 2020;17(1):143–152; doi: 10.1007/s13762-019-02338-y.

Khemissi R and Medafer F. Caractérisation et Choix d’une Filière de Traitement Des Déchets Ménagers et Assimilés de La Ville d’Oran (Région Ouest). 2014.

Khraisheh MAM, Al-Ghouti MA, Allen SJ, et al. Effect of OH and Silanol Groups in the

Removal of Dyes from Aqueous Solution Using Diatomite. Water Res 2005;39(5):922–932; doi: 10.1016/j.watres.2004.12.008.

Kielak AM, Barreto CC, Kowalchuk GA, et al. The Ecology of Acidobacteria: Moving beyond Genes and Genomes. Front Microbiol 2016;7(MAY):1–16; doi: 10.3389/fmicb.2016.00744.

Kjeldsen P, Barlaz MA, Rooker AP, et al. Critical Reviews in Environmental Science and Technology Present and Long-Term Composition of MSW Landfill Leachate: A Review Present and Long-Term Composition of MSW Landfill Leachate: A Review. Crit Rev Environ Sci Technol 2010;32(324):37–41.

Koda E, Miszkowska A and Sieczka A. Levels of Organic Pollution Indicators in Groundwater at the Old Landfill and Waste Management Site. Appl Sci 2017;7(6); doi: 10.3390/app7060638.

Kompantseva EI, Kublanov I V., Perevalova AA, et al. Calorithrix Insularis Gen. Nov., Sp. Nov., a Novel Representative of the Phylum Calditrichaeota. Int J Syst Evol Microbiol 2017;67(5):1486–1490; doi: 10.1099/ijsem.0.001744.

Kop J. Introduction à l ' Environnement R Pour l ' Analyse de Données Quantitatives En Psychologie To Cite This Version : HAL Id : Hal-02276521 Introduction à l ' Environnement R Pour l ' Analyse de Données Quantitatives En Psychologie. 2019.

Koshy N and Singh DN. Fly Ash Zeolites for Water Treatment Applications. J Environ Chem Eng 2016;4(2):1460–1472; doi: 10.1016/j.jece.2016.02.002.

Koyuncu I, Sengur R, Turken T, et al. Advances in Water Treatment by Microfiltration, Ultrafiltration, and Nanofiltration. 2015.; doi: 10.1016/B978-1-78242-121-4.00003-4.

Kuczynski J, Stombaugh J, Walters WA, et al. Using QIIME to Analyze 16S Rrna Gene Sequences from Microbial Communities. Curr Protoc Bioinforma 2011;(SUPPL.36):1–20; doi: 10.1002/0471250953.bi1007s36.

Kulikowska D and Klimiuk E. The Effect of Landfill Age on Municipal Leachate Composition. Bioresour Technol 2008;99(13):5981–5985; doi: 10.1016/j.biortech.2007.10.015.

Kumar Awasthi M, Ravindran B, Sarsaiya S, et al. Metagenomics for Taxonomy Profiling: Tools and Approaches. Bioengineered 2020;11(1):356–374; doi: 10.1080/21655979.2020.1736238.

Laafou S, Abdallaoui A and Ben Aakame R. Assessment of Physicochemical Quality of Water from Springs in the Bittit Area (El Hajeb, Morocco). IOSR J Environ Sci Toxicol Food Technol 2014;8(1):22–26; doi: 10.9790/2402-08112226.

Larouche S. Fonctionnement d'un Centre de Stockage. 2015.

Lau E, Frame CH, Nolan EJ, et al. Diversity and Relative Abundance of Ammonia- And Nitrite-Oxidizing Microorganisms in the Offshore Namibian Hypoxic Zone. PLoS One 2019;14(5):1–20; doi: 10.1371/journal.pone.0217136.

Lee H, Jang Y, Lee YM, et al. Enhanced Removal of PAHs by Peniophora Incarnata and Ascertainment of Its Novel Ligninolytic Enzyme Genes. J Environ Manage 2015;164:10–18; doi: 10.1016/j.jenvman.2015.08.036.

Lee S, Park MS and Lim YW. Diversity of Marine-Derived Aspergillus from Tidal Mudflats

and Sea Sand in Korea. Mycobiology 2016;44(4):237–247; doi: 10.5941/MYCO.2016.44.4.237.

Lee YM, Lee YM, Hwang K, et al. MICROBIAL COMMUNITY AND GENOMIC INSIGHT TO PREDOMINANT CANDIDATUS ATRIBACTERIA JS1 LINEAGE IN MARINE SEIMENTS OF THE ROSS SEA , ANTARCTICA. 2017;2–3.

Li D and Liu S. Water Quality Monitoring in Aquaculture. Water Qual Monit Manag 2019;303–328; doi: 10.1016/b978-0-12-811330-1.00012-0.

Li XZ, Zhao QL and Hao XD. Ammonium Removal from Landfill Leachate by Chemical Precipitation. Waste Manag 1999;19(6):409–415; doi: 10.1016/S0956-053X(99)00148-8.

Liang Z, Shen Z, Zhang Y, et al. Morphology and Phylogeny of Four New Vorticella Species (Ciliophora: Peritrichia) from Coastal Waters of Southern China. J Eukaryot Microbiol 2019;66(2):267–280; doi: 10.1111/jeu.12668.

LibreTexts. Book : Microbiology (Boundless). 2021.

Liu L, Feng Y, Wei L, et al. Genome-Based Taxonomy of Brevundimonas with Reporting Brevundimonas Huaxiensis Sp. Nov. . Microbiol Spectr 2021;9(1); doi: 10.1128/spectrum.00111-21.

López-García A, Pineda-Quiroga C, Atxaerandio R, et al. Comparison of Mothur and QIIME for the Analysis of Rumen Microbiota Composition Based on 16S RRNA Amplicon Sequences. Front Microbiol 2018;9(DEC); doi: 10.3389/fmicb.2018.03010.

Lu X, Huang J, Shao C, et al. Morphology and Morphogenesis of a Novel Saline Soil Hypotrichous Ciliate, Gonostomum Sinicum Nov. Spec. (Ciliophora, Hypotrichia, Gonostomatidae), Including a Report on the Small Subunit RDNA Sequence. J Eukaryot Microbiol 2017;64(5):632–646; doi: 10.1111/jeu.12398.

Luo W, Kotut K and Krienitz L. Hidden Diversity of Eukaryotic Plankton in the Soda Lake Nakuru, Kenya, during a Phase of Low Salinity Revealed by a SSU RRNA Gene Clone Library. Hydrobiologia 2013;702(1):95–103; doi: 10.1007/s10750-012-1310-y.

Lv Q feng, Wang Z shuai, Gu L yang, et al. Effect of Sodium Sulfate on Strength and Microstructure of Alkali-Activated Fly Ash Based Geopolymer. J Cent South Univ 2020;27(6):1691–1702; doi: 10.1007/s11771-020-4400-4.

M.E.M.E.E. Valeurs Limites de Rejet à Respecter Par Les Déversements (Normes de Pollution). 2014.

Macwilliams MP and Liao M. Luria Broth (LB) and Luria Agar (LA) Media and Their Uses Protocol. Am Soc Microbiol 2019;(October 2006):7–9.

Madoni P. Protozoa in Wastewater Treatment Processes: A Minireview. Ital J Zool 2011;78(1):3–11; doi: 10.1080/11250000903373797.

Magoč T and Salzberg SL. FLASH: Fast Length Adjustment of Short Reads to Improve Genome Assemblies. Bioinformatics 2011;27(21):2957–2963; doi: 10.1093/bioinformatics/btr507.

Mansouri , N., Assabaa , R. and Bennadji , K. The Impact of EL HARIA Technical Landfill on the Environment : Degradation of Microbiological Water Quality. J New Technol Mater 2018;8(2):83–93; doi: 10.12816/0053510.

Marcon E. Mesures de La Biodiversité. 2018.

Marshall1 IPG, Starnawski P, Cupit C, et al. The Novel Bacterial Phylum Calditrichaeota Is Diverse, Widespread and Abundant in Marine Sediments and Has the Capacity to Degrade Detrital Proteins Re-Submitted. Nuevos Sist Comun e Inf 2021;2013–2015.

Martín-Cereceda M, Guinea A, Bonaccorso E, et al. Classification of the Peritrich Ciliate Opisthonecta Matiensis (Martín-Cereceda et Al. 1999) as Telotrochidium Matiense Nov. Comb., Based on New Observations and SSU RDNA Phylogeny. Eur J Protistol 2007;43(4):265–279; doi: 10.1016/j.ejop.2007.04.003.

Masykuri M and Setyono P. BIOREMEDIATION USING Bacillus Subtilis AND Saccharomyces Cerevisiae. 2019;16(2):191–202; doi: 10.20961/stjssa.v16i2.29730.

Maszenan AM, Seviour RJ, Patel BKC, et al. Isolated from Activated Sludge Biomass, and Descriptions of Amaricoccus Veronensis Sp. Nov., Amaricoccus Tamworthensis Sp. Nov., Amaricoccus Macauensis Sp. Nov. Int J Syst Bacteriol 1997;47(3):727–734.

Matsunaga K, Kubota K and Harada H. Molecular Diversity of Eukaryotes in Municipal Wastewater Treatment Processes as Revealed by 18S RRNA Gene Analysis. Microbes Environ 2014;29(4):401–407; doi: 10.1264/jsme2.ME14112.

Matturro B, Viggi CC, Aulenta F, et al. Cable Bacteria and the Bioelectrochemical Snorkel: The Natural and Engineered Facets Playing a Role in Hydrocarbons Degradation in Marine Sediments. Front Microbiol 2017;8(MAY):1–13; doi: 10.3389/fmicb.2017.00952.

Maurel A. Techniques Séparatives à Membranes - Considérations Théoriques. 1993.

Méheust R, Castelle CJ, Matheus Carnevali PB, et al. Groundwater Elusimicrobia Are Metabolically Diverse Compared to Gut Microbiome Elusimicrobia and Some Have a Novel Nitrogenase Paralog. ISME J 2020;14(12):2907–2922; doi: 10.1038/s41396-020-0716-1.

Mehl C, Schoeman MC, Sanko TJ, et al. Wastewater Treatment Works Change the Intestinal Microbiomes of Insectivorous Bats. PLoS One 2021;16(3 March):1–15; doi: 10.1371/journal.pone.0247475.

Meng FX, Yang XC, Yu PS, et al. Citricoccus Zhacaiensis Sp. Nov., Isolated from a Bioreactor for Saline Wastewater Treatment. Int J Syst Evol Microbiol 2010;60(3):495–499; doi: 10.1099/ijs.0.011635-0.

Meres M. Analyse de La Composition Du Biogaz En Vue de l'optimisation de Sa Production et de Son Exploitation Dans Des Centres de Stockage Des Déchets Ménagers / [Composition of Biogas Analysis in Order to Optimize Production and Harvesting in Domestic Waster Stoc. 2009.

Merzouki M and Amakdouf H. Plant for Treatment of Landfill Leachates, WO2020231245A1. 2019;04(51).

MEVAC et ECI. Stratégie Nationale de Réduction et de Valorisation Des Déchets. 2019.

Mhedhbi E, Khelifi N, Foladori P, et al. Real-Time Behavior of a Microalgae-Bacteria Consortium Treating Wastewater in a Sequencing Batch Reactor in Response to Feeding Time and Agitation Mode. Water (Switzerland) 2020;12(7); doi: 10.3390/w12071893.

Ministère de l'intérieur. Programme National Des Déchets Ménagers. 2013.

Ministère délégué auprès du ministre de l'énergie des mines, de l'eau et de l'environnement

chargé de l'environnement. L'état de l'environnement Du Maroc. 2015.

Mironov T and Sabaneyeva E. A Robust Symbiotic Relationship Between the Ciliate Paramecium Multimicronucleatum and the Bacterium Ca. Trichorickettsia Mobilis. Front Microbiol 2020;11(November):1–14; doi: 10.3389/fmicb.2020.603335.

Miroshnichenko ML, Kostrikina NA, Chernyh NA, et al. Caldithrix Abyssi Gen. Nov., Sp. Nov., a Nitrate-Reducing, Thermophilic, Anaerobic Bacterium Isolated from a Mid-Atlantic Ridge Hydrothermal Vent, Represents a Novel Bacterial Lineage. Int J Syst Evol Microbiol 2003;53(1):323–329; doi: 10.1099/ijs.0.02390-0.

Mobaligh M, Meddich A, Imziln B, et al. The Use of Phosphate Washing Sludge to Recover by Composting the Leachate from the Controlled Landfill. Processes 2021;9(10); doi: 10.3390/pr9101735.

Mojiri A, Aziz HA and Aziz SQ. Trends in Physical-Chemical Methods for Landfill Leachate Treatment. Int J Sci Res Environ Sci 2013;1(2):16–25; doi: 10.12983/ijsres-2013-p016-025.

Moreira D and López-García P. Phylotype. In: Encyclopedia of Astrobiology. (Gargaud M, Amils R, Quintanilla JC, et al. eds) Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg; 2011; p. 1254; doi: 10.1007/978-3-642-11274-4_1210.

Mudgal M, Chouhan RK, Kushwah S, et al. Enhancing Reactivity and Properties of Fly-Ash-Based Solid-Form Geopolymer via Ball-Milling. Emerg Mater Res 2020;9(1):2–9; doi: 10.1680/jemmr.19.00065.

Mueller AJ, Jung MY, Strachan CR, et al. Genomic and Kinetic Analysis of Novel Nitrospinae Enriched by Cell Sorting. ISME J 2021;15(3):732–745; doi: 10.1038/s41396-020-00809-6.

Mujakić I, Piwosz K and Koblížek M. Phylum Gemmatimonadota and Its Role in the Environment. Microorganisms 2022;10(1):1–17; doi: 10.3390/microorganisms10010151.

Mujtaba G and Lee K. Advanced Treatment of Wastewater Using Symbiotic Co-Culture of Microalgae and Bacteria. Appl Chem Eng 2016;27(1):1–9; doi: 10.14478/ace.2016.1002.

Mukherjee J and Ghosh D. Environmental Biotechnology. Chem Eng Technol 2016;39(9):1592; doi: 10.1002/ceat.201690051.

Mukhopadhya I, Hansen R, El-Omar EM, et al. IBD-What Role Do Proteobacteria Play? Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2012;9(4):219–230; doi: 10.1038/nrgastro.2012.14.

Münch E V., Lant P and Keller J. Simultaneous Nitrification and Denitrification in Bench-Scale Sequencing Batch Reactors. Water Res 1996;30(2):277–284; doi: 10.1016/0043-1354(95)00174-3.

Murthy S, Bali G and Sarangi SK. Biosorption of Lead by Bacillus Cereus Isolated from Industrial Effluents. 2012;2(2):73–84.

Nagy LG and Szöllősi G. Fungal Phylogeny in the Age of Genomics: Insights Into Phylogenetic Inference From Genome-Scale Datasets. Adv Genet 2017;100:49–72; doi: 10.1016/bs.adgen.2017.09.008.

Naveen BP, Mahapatra DM, Sitharam TG, et al. Physico-Chemical and Biological Characterization of Urban Municipal Landfill Leachate. Environ Pollut 2017;220:1–12; doi: 10.1016/j.envpol.2016.09.002.

Neveu P. Le Logiciel R (Introduction). 2009;1–33.

Nicholls KH and Wujek DE. Chrysophycean Algae. Elsevier Inc.; 2003.; doi: 10.1016/B978-012741550-5/50013-1.

Nitsche F, Weitere M, Wylezich C, et al. Deep Sea Records of Choanoflagellates with a Description of Two New Species. 2007;(May 2014).

Niu L, Li Y, Xu L, et al. Ignored Fungal Community in Activated Sludge Wastewater Treatment Plants: Diversity and Altitudinal Characteristics. Environ Sci Pollut Res 2017;24(4):4185–4193; doi: 10.1007/s11356-016-8137-4.

Niversity U, Hu HSIN and Aiwan T. Species Richness : Estimation and Comparison. 2016.; doi: 10.1002/9781118445112.stat03432.pub2.

Nobu MK, Dodsworth JA, Murugapiran SK, et al. Phylogeny and Physiology of Candidate Phylum "Atribacteria" (OP9/JS1) Inferred from Cultivation-Independent Genomics. ISME J 2016;10(2):273–286; doi: 10.1038/ismej.2015.97.

Norihide Kakiichi, Miki Saito, Takashi Yayamoto, Shin-ichi Kamata, Osamu Ito, Masatoshi Hayashi, Ken-ichi Komine HO and KU. Toxicity Test for Invert Soap against Ciliate Colpoda Aspera. Nihon Chikusan Gakkaiho 1991;62(12):1113–1119; doi: 10.2508/chikusan.62.1113.

Nouioui I, Sangal V, Cortes-Albayay C, et al. Mycolicibacterium Stellerae Sp. Nov., a Rapidly Growing Scotochromogenic Strain Isolated from Stellera Chamaejasme. Int J Syst Evol Microbiol 2019;69(11):3465–3471; doi: 10.1099/ijsem.0.003644.

Nunes CS and Kunamneni A. Laccases-Properties and Applications. Elsevier Inc.; 2018.; doi: 10.1016/B978-0-12-805419-2.00007-1.

Nunes JV, Silva MWB, Couto GH, et al. Biological Diversity in Aerated Facultative Lagoon Treating Kraft Cellulose Effluent Through Bioaugmentation. Res Sq 2021;1–17.

Nya I. La Modernisation Du Processus de Gestion Des Déchets Au Maroc : Miracle Ou Mirage ? Rev Int des Sci Gest 2020;3(2665–7473):389–407.

Obaidi Ouidiane and Merzouki Mohammed. Performance of a Sequencing Batch Reactor for the Treatment of Domestic Wastewater. 2016;143(2):226–236.

Okurowska K, Karunakaran E, Al-Farttoosy A, et al. Adapting the Algal Microbiome for Growth on Domestic Landfill Leachate. Bioresour Technol 2021;319:124246; doi: 10.1016/j.biortech.2020.124246.

Ololade OO, Mavimbela S, Oke SA, et al. Impact of Leachate from Northern Landfill Site in Bloemfontein on Water and Soil Quality: Implications for Water and Food Security. Sustain 2019;11(15); doi: 10.3390/su11154238.

Ortiz ACT, Chávez GEM, Garzón-Zuñiga M, et al. The Testate Lobose Amoebae in the Wastewater Treatment. 2009;347–351; doi: 10.1142/9789812837554_0073.

Ouigmane A, Boudouch O, Hasib A, et al. Handbook of Environmental Materials Management. Handb Environ Mater Manag 2020;(January); doi: 10.1007/978-3-319-58538-3.

Ousmane N, Aly D, Bassimbé SM, et al. Diversité Floristique Des Peuplements Ligneux Du Ferlo, Sénégal. VertigO 2013;(Volume 13 Numéro 3); doi: 10.4000/vertigo.14352.

P C Bradbury DEO. The Structure of Colpoda Elliotti n. Sp. P. 2013;64:153–178; doi:

10.1090/gsm/146/03.

Pagnanelli F, Mainelli S, Bornoroni L, et al. Mechanisms of Heavy-Metal Removal by Activated Sludge. Chemosphere 2009;75(8):1028–1034; doi: 10.1016/j.chemosphere.2009.01.043.

Pajdak-Stós A, Sobczyk M, Fiałkowska E, et al. The Effect of Three Different Predatory Ciliate Species on Activated Sludge Microfauna. Eur J Protistol 2017;58:87–93; doi: 10.1016/j.ejop.2017.01.001.

Pal P. Introduction to Membrane-Based Technology Applications. Membr Technol Environ Pollut Control 2020;71–100; doi: 10.1016/b978-0-12-819455-3.00002-9.

Parakh SK, Praveen P, Loh KC, et al. Wastewater Treatment and Microbial Community Dynamics in a Sequencing Batch Reactor Operating under Photosynthetic Aeration. Chemosphere 2019;215:893–903; doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.10.085.

Paruti B and Santhaveeranagoud B. Characterisation of Leachate in Solid Waste Landfill Site: A Case Study of S. Bingipur in Bangalore. A NNALS Fac Eng Hunedoara – Int J Eng 2019;16(1):205–208.

Parvin F and Tareq SM. Impact of Landfill Leachate Contamination on Surface and Groundwater of Bangladesh: A Systematic Review and Possible Public Health Risks Assessment. Appl Water Sci 2021;11(6):1–17; doi: 10.1007/s13201-021-01431-3.

Pasquier H. Définir l ’ Acceptabilité Sociale Dans Les Modèles d ’ Usage : Vers l ’ Introduction de La Valeur Sociale Dans La Prédiction Du Comportement d ’ Utilisation To Cite This Version : HAL Id : Tel-00840220 Définir l ’ Acceptabilité Sociale Dans Les Modèles d. 2013.

PEET RK. Relative Diversity Indices. 2013;56(2):496–498.

Péricard P. Algorithmes Pour La Reconstruction de Séquences de Marqueurs Conservés Dans Des Données de Métagénomique. 2017.

Phukhamsakda C, McKenzie EHC, Phillips AJL, et al. Microfungi Associated with Clematis (Ranunculaceae) with an Integrated Approach to Delimiting Species Boundaries. Springer Netherlands; 2020.; doi: 10.1007/s13225-020-00448-4.

Pierpaoli M, Jakobczyk P, Sawczak M, et al. Carbon Nanoarchitectures as High-Performance Electrodes for the Electrochemical Oxidation of Landfill Leachate. J Hazard Mater 2021;401(April 2020):123407; doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.123407.

PLA L. Biodiversidad: Inferencia Basada En El Índice de Shannon y La Riqueza. Idesia (Arica) 2006;24(3):583–590.

Podosokorskaya OA and Kublanov I V. O Rnatilinea. In: Bergey’s Manual of Systematics of Archaea and Bacteria 2018; pp. 1–3; doi: 10.1002/9781118960608.gbm01483.

Poltak RF. Sequencing Batch Reactor Design and Operational Considerations Manual. New Engl Interstate Water Pollut Control Comm Massachusetts, USA 2005;(September):27.

Prokina KI and Mylnikov AP. Centrohelid Heliozoans from Freshwater Habitats of Different Types of South Patagonia and Tierra Del Fuego, Chile. Inl Water Biol 2019;12(1):10–20; doi: 10.1134/S1995082919010164.

Putaporntip C, Kuamsab N, Nuprasert W, et al. Analysis of Acanthamoeba Genotypes from

Public Freshwater Sources in Thailand Reveals a New Genotype, T23 Acanthamoeba Bangkokensis Sp. Nov. Sci Rep 2021;11(1):1–13; doi: 10.1038/s41598-021-96690-0.

Qi F, Jia Y, Mu R, et al. Convergent Community Structure of Algal–Bacterial Consortia and Its Effects on Advanced Wastewater Treatment and Biomass Production. Sci Rep 2021;11(1):1–12; doi: 10.1038/s41598-021-00517-x.

Qiu R, Cheng F and Huang H. Removal of Cd2+ from Aqueous Solution Using Hydrothermally Modified Circulating Fluidized Bed Fly Ash Resulting from Coal Gangue Power Plant. J Clean Prod 2018;172:1918–1927; doi: 10.1016/j.jclepro.2017.11.236.

Rai M, Bonde S, Golinska P, et al. Fusarium as a Novel Fungus for the Synthesis of Nanoparticles: Mechanism and Applications. J Fungi 2021;7(2):1–24; doi: 10.3390/jof7020139.

Rajta A, Bhatia R, Setia H, et al. Role of Heterotrophic Aerobic Denitrifying Bacteria in Nitrate Removal from Wastewater. J Appl Microbiol 2020;128(5):1261–1278; doi: 10.1111/jam.14476.

Rani A, Negi S, Hussain A, et al. Treatment of Urban Municipal Landfill Leachate Utilizing Garbage Enzyme. Bioresour Technol 2020;297:122437; doi: 10.1016/j.biortech.2019.122437.

Ratio H and Antipolis N. Encyclopedia of Astrobiology. 2011.; doi: 10.1007/978-3-642-11274-4.

Ratsak CH, Maarsen KA and Kooijman SALM. Effects of Protozoa on Carbon Mineralization in Activated Sludge. Water Res 1996;30(1):1–12; doi: 10.1016/0043-1354(95)00096-4.

Renou S, Givaudan JG, Poulain S, et al. Landfill Leachate Treatment: Review and Opportunity. J Hazard Mater 2008;150(3):468–493; doi: 10.1016/j.jhazmat.2007.09.077.

Riviere D. Exploration de La Diversité Des Digesteurs Anaérobies : Relation Biodiversité Conditions d ' Exploitation et Performances de Traitement Des Boues. 2009.

Rodier J, Legube B and Merlet N. Rodier l'analyse de l'eau. 9e édition. Paris; 2009.

Rose JM, Vora NM and Caron DA. Effect of Temperature and Prey Type on Nutrient Regeneration by an Antarctic Bacterivorous Protist. Microb Ecol 2008;56(1):101–111; doi: 10.1007/s00248-007-9328-9.

Rosenberg E, F. DeLong E, Lory S, et al. The Prokaryotes - Springer. 2014.

Rout PR, Dash RR, Bhunia P, et al. Role of Bacillus Cereus GS-5 Strain on Simultaneous Nitrogen and Phosphorous Removal from Domestic Wastewater in an Inventive Single Unit Multi-Layer Packed Bed Bioreactor. Bioresour Technol 2018;262:251–260; doi: 10.1016/j.biortech.2018.04.087.

S. Renou SP. Lixiviat de Centre de Stockage : Déchet Généré Par Des Déchets. 2013;(January 2008).

Saeed T and Sun G. A Review on Nitrogen and Organics Removal Mechanisms in Subsurface Fl Ow Constructed Wetlands : Dependency on Environmental Parameters , Operating Conditions and Supporting Media. J Environ Manage 2012;112:429–448; doi: 10.1016/j.jenvman.2012.08.011.

Sahraoui H and Aboubaker Y. Evaluation Des Performances Du Système "Filtres Imbriqués" Appliqué Au Traitement Des Lixiviats. 2016.

Samson RA, Visagie CM, Houbraken J, et al. Phylogeny, Identification and Nomenclature of the Genus Aspergillus. Stud Mycol 2014;78(1):141–173; doi: 10.1016/j.simyco.2014.07.004.

Sanchez AO. THESE Cifre PROPRIETES D ' ADSORPTION DE DIFFERENTS SUBSTRATS MICROPOREUX APPLIQUES A LA SEPARATION DE GAZ : CARACTERISATION , MODELISATION ET METHODOLOGIE Présentée Par. 2019.

Sangnoi Y, Chankaew S and O-Thong S. Indigenous Halomonas Spp., the Potential Nitrifying Bacteria for Saline Ammonium Waste Water Treatment. Pakistan J Biol Sci 2017;20(1):52–58; doi: 10.3923/pjbs.2017.52.58.

dos Santos HAP, de Castilhos Júnior AB, Nadaleti WC, et al. Ammonia Recovery from Air Stripping Process Applied to Landfill Leachate Treatment. Environ Sci Pollut Res 2020;27(36):45108–45120; doi: 10.1007/s11356-020-10397-9.

Schaechter M. Ciliophora. 2017.; doi: 10.1007/978-3-319-28149-0.

Schilde C. Amoebozoa. 2019.; doi: 10.1016/B978-0-12-809633-8.20790-5.

Schloss PD and Handelsman J. Introducing DOTUR , a Computer Program for Defining Operational Taxonomic Units and Estimating Species Richness. 2005;71(3):1501–1506; doi: 10.1128/AEM.71.3.1501.

Schloss PD, Westcott SL, Ryabin T, et al. Introducing Mothur: Open-Source, Platform-Independent, Community-Supported Software for Describing and Comparing Microbial Communities. Appl Environ Microbiol 2009;75(23):7537–7541; doi: 10.1128/AEM.01541-09.

Schulz F, Tyml T, Pizzetti I, et al. Marine Amoebae with Cytoplasmic and Perinuclear Symbionts Deeply Branching in the Gammaproteobacteria. Sci Rep 2015;5(August):1–10; doi: 10.1038/srep13381.

Seviour RJ, Mino T and Onuki M. The Microbiology of Biological Phosphorus Removal in Activated Sludge Systems. FEMS Microbiol Rev 2003;27(1):99–127; doi: 10.1016/S0168-6445(03)00021-4.

Shah TH and Rawal A. Textiles in Filtration. Second Edi. Elsevier Ltd.; 2016.; doi: 10.1016/b978-1-78242-465-9.00003-3.

Shan L, Zhang Z, Yu Y, et al. Performance of CSTR–EGSB–SBR System for Treating Sulfate-Rich Cellulosic Ethanol Wastewater and Microbial Community Analysis. Environ Sci Pollut Res 2017;24(16):14387–14395; doi: 10.1007/s11356-017-9022-5.

Shao Y, Pei H, Hu W, et al. Bioaugmentation in Lab Scale Constructed Wetland Microcosms for Treating Polluted River Water and Domestic Wastewater in Northern China. Int Biodeterior Biodegrad 2014;95(PA):151–159; doi: 10.1016/j.ibiod.2014.05.027.

Shivani Y, Subhash Y, Sasikala C, et al. Characterisation of a Newly Isolated Member of a Candidatus Lineage, Marispirochaeta Aestuarii Gen. Nov., Sp. Nov. Int J Syst Evol Microbiol 2017;67(10):3929–3936; doi: 10.1099/ijsem.0.002224.

Shmakova LA, Karpov SA, Malavin SA, et al. Morphology, Biology and Phylogeny of Phalansterium Arcticum Sp. n. (Amoebozoa, Variosea), Isolated from Ancient Arctic Permafrost. Eur J Protistol 2018;63:117–129; doi: 10.1016/j.ejop.2018.02.002.

Sidat M, Bux F and Kasan HC. Polyphosphate Accumulation by Bacteria Isolated from Activated Sludge. Water SA 1999;25(2):175–179.

Sidi U, Ben M and Raouf PJ. MEMOIRE DE FIN D ' ETUDES Pour l ' o Btention Du Diplôme de Licence Sciences et Techniques Analyse Physico-Chimique Des Sols Agricoles. 2015;212(0):2014–2015.

Sigman DM and Fripiat F. Nitrogen Isotopes in the Ocean. Encycl Ocean Sci 2019;263–278; doi: 10.1016/B978-0-12-409548-9.11605-7.

Sillet A-A, Royer S, Coque Y, et al. Les Lixiviats de Décharges d'ordures MénagèresGenèse, Composition et Traitements. Déchets, Sci Tech 2001;(22):6–11; doi: 10.4267/dechets-sciences-techniques.1341.

Silva MLB Da and Alvarez PJ. Bioaugmentation. 2010.; doi: 10.1007/978-3-540-77587-4.

Šimonovičová A, Kraková L, Pangallo D, et al. Fungi on Mummified Human Remains and in the Indoor Air in the Kuffner Family Crypt in Sládkovičovo (Slovakia). Int Biodeterior Biodegrad 2015;99:157–164; doi: 10.1016/j.ibiod.2014.12.011.

Singh R. Introduction to Membrane Technology. Membr Technol Eng Water Purif 2015;1–80; doi: 10.1016/b978-0-444-63362-0.00001-x.

Sizentcov A, Sal'Nikova E, Barysheva E, et al. Biotoxicity of Heavy Metal Salts to Bacillus Subtilis and Their Sorption Properties. E3S Web Conf 2020;157; doi: 10.1051/e3sconf/202015702012.

Smyth M and Horan NJ. Sequencing Batch Reactors - Past, Present and Future. 8th Eur Waste Water Manag Conf 2015;(1914).

Song J, Zhang W, Gao J, et al. A Pilot-Scale Study on the Treatment of Landfill Leachate by a Composite Biological System under Low Dissolved Oxygen Conditions: Performance and Microbial Community. Elsevier Ltd; 2019.; doi: 10.1016/j.biortech.2019.122344.

Sorokin DY, Vejmelkova D, Lücker S, et al. Nitrolancea Hollandica Gen. Nov., Sp. Nov., a Chemolithoautotrophic Nitrite-Oxidizing Bacterium Isolated from a Bioreactor Belonging to the Phylum Chloroflexi. Int J Syst Evol Microbiol 2014;64(PART 6):1859–1865; doi: 10.1099/ijs.0.062232-0.

Sowani H, Kulkarni M, Zinjarde S, et al. Gordonia and Related Genera as Opportunistic Human Pathogens Causing Infections of Skin, Soft Tissues, and Bones. 1st ed. Elsevier Inc.; 2017.; doi: 10.1016/b978-0-12-811079-9.00007-0.

Species P, Verma A, Kazandjian A, et al. Morphology and Phylogenetics of Benthic. Toxins (Basel) 2007.

Speirs LBM, Rice DTF, Petrovski S, et al. The Phylogeny, Biodiversity, and Ecology of the Chloroflexi in Activated Sludge. Front Microbiol 2019;10(September); doi: 10.3389/fmicb.2019.02015.

Spennati F. Use of Fungi and Bacteria for the Removal of Recalcitrant Compounds from Tannery Wastewater. 2018;196.

Spieck E, Sass K, Keuter S, et al. Defining Culture Conditions for the Hidden Nitrite-Oxidizing Bacterium Nitrolancea. Front Microbiol 2020;11(July):1–17; doi: 10.3389/fmicb.2020.01522.

Stingl U, Radek R, Yang H, et al. "Endomicrobia": Cytoplasmic Symbionts of Termite Gut Protozoa Form a Separate Phylum of Prokaryotes. Appl Environ Microbiol 2005;71(3):1473–1479; doi: 10.1128/AEM.71.3.1473-1479.2005.

Suárez-Suárez A, López-López A, Tovar-Sánchez A, et al. Response of Sulfate-Reducing Bacteria to an Artificial Oil-Spill in a Coastal Marine Sediment. Environ Microbiol 2011;13(6):1488–1499; doi: 10.1111/j.1462-2920.2011.02451.x.

Sun P, Clamp JC, Xu D, et al. An ITS-Based Phylogenetic Framework for the Genus Vorticella: Finding the Molecular and Morphological Gaps in a Taxonomically Difficult Group. Proc R Soc B Biol Sci 2013;280(1771); doi: 10.1098/rspb.2013.1177.

Sun X, Kop LFM, Lau MCY, et al. Uncultured Nitrospina-like Species Are Major Nitrite Oxidizing Bacteria in Oxygen Minimum Zones. ISME J 2019;13(10):2391–2402; doi: 10.1038/s41396-019-0443-7.

Sun Y, Kumar M, Wang L, et al. Biotechnology for Soil Decontamination: Opportunity, Challenges, and Prospects for Pesticide Biodegradation. LTD; 2020.; doi: 10.1016/b978-0-12-819481-2.00013-1.

Suresh S, Tripath RK and Rana MNG. Review on Treatment of Industrial Wastewater Using Sequential Batch Reactor. Int J Sci Technol Manag 2011;2(1):64–84.

Syed S and Chinthala P. Heavy Metal Detoxification by Different Bacillus Species Isolated from Solar Salterns. Scientifica (Cairo) 2015;2015:1–8; doi: 10.1155/2015/319760.

Systems N, Techniques B, Hillmann B, et al. Crossm Metagenomics. 2018;3(6):1–12.

Taştan BE, Ertuğrul S and Dönmez G. Effective Bioremoval of Reactive Dye and Heavy Metals by Aspergillus Versicolor. Bioresour Technol 2010;101(3):870–876; doi: 10.1016/j.biortech.2009.08.099.

Taylor TN, Krings M and Taylor EL. Ascomycota. 2015.; doi: 10.1016/b978-0-12-387731-4.00008-6.

Teixeira MM, Moreno LF, Stielow BJ, et al. Exploring the Genomic Diversity of Black Yeasts and Relatives (Chaetothyriales, Ascomycota). Stud Mycol 2017;86:1–28; doi: 10.1016/j.simyco.2017.01.001.

Tekle YI, Lyttle JM, Blasingame MG, et al. Comprehensive Comparative Genomics Reveals over 50 Phyla of Free-Living and Pathogenic Bacteria Are Associated with Diverse Members of the Amoebozoa. Sci Rep 2021;11(1); doi: 10.1038/s41598-021-87192-0.

Teng C, Zhou K, Peng C, et al. Characterization and Treatment of Landfill Leachate: A Review. Water Res 2021;203(July):117525; doi: 10.1016/j.watres.2021.117525.

Thakur IS and Medhi K. Nitrification and Denitrification Processes for Mitigation of Nitrous Oxide from Waste Water Treatment Plants for Biovalorization: Challenges and Opportunities. Bioresour Technol 2019;282(March):502–513; doi: 10.1016/j.biortech.2019.03.069.

The Climate Chance Observatory team. Moroccan Society ’ s Uneven Response to the Proliferation of Waste. 2020.

Thoen CO. Mycobacterium. 1990.; doi: 10.1016/b978-0-12-161775-2.50027-x.

Thonart P, Steyer E, Hiligsmann R, et al. La Gestion Biologique d’une Décharge. La Trib l’eau 1998;(N°590/591):1–17.

Thukral AK. A Review on Measurement of Alpha Diversity in Biology. 2017;(January); doi: 10.5958/2395-146X.2017.00001.1.

Tigini V, Prigione V and Varese GC. Mycological and Ecotoxicological Characterisation of Landfill Leachate before and after Traditional Treatments. Sci Total Environ 2014;487(1):335–341; doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.04.026.

Tikhonenkov D V., Hehenberger E, Esaulov AS, et al. Insights into the Origin of Metazoan Multicellularity from Predatory Unicellular Relatives of Animals. BMC Biol 2020;18(1):1–24; doi: 10.1186/s12915-020-0762-1.

Tirry Nabil. Isolement et Sélection de Souches Bactériennes En Vue de Les Utiliser Dans Le Traitement Des Lixiviats de La Décharge Contrôlée de La Ville de Fès. 2015.

Toniolo N, Taveri G, Hurle K, et al. Fly-Ash-Based Geopolymers: How the Addition of Recycled Glass or Red Mud Waste Influences the Structural and Mechanical Properties. J Ceram Sci Technol 2017;8(3):411–419; doi: 10.4416/JCST2017-00053.

Trabelsi S. Études de Traitement Des Lixiviats Des Déchets Urbains Par Les Procédés d'Oxydation Avancée Photochimiques et Électrochimiques. Application Aux Lixiviats de La Décharge Tunisienne "Jebel Chakir." 2012.

Tran TTT, Kannoorpatti K, Padovan A, et al. Sulphate-Reducing Bacteria's Response to Extreme Ph Environments and the Effect of Their Activities on Microbial Corrosion. Appl Sci 2021;11(5):1–19; doi: 10.3390/app11052201.

Trick JK, Stuart M and Reeder S. Contaminated Groundwater Sampling and Quality Control of Water Analyses. 2nd ed. Elsevier B.V.; 2018.; doi: 10.1016/B978-0-444-63763-5.00004-5.

Tsilo PH, Basson AK, Ntombela ZG, et al. Production and Characterization of a Bioflocculant from Pichia Kudriavzevii MH545928.1 and Its Application in Wastewater Treatment. Int J Environ Res Public Health 2022;19(6); doi: 10.3390/ijerph19063148.

UN. Morocco Environmental Performance Reviews. 2016.

Ushiki N, Jinno M, Fujitani H, et al. Nitrite Oxidation Kinetics of Two Nitrospira Strains: The Quest for Competition and Ecological Niche Differentiation. J Biosci Bioeng 2017;123(5):581–589; doi: 10.1016/j.jbiosc.2016.12.016.

Vanpeene-bruhier S. La Richesse Spécifique : Un Outil Pour La Prise En Compte de La Biodiversité Dans La Gestion de l'espace -. 1998;47–59.

Vaverková MD, Adamcová D, Radziemska M, et al. Assessment and Evaluation of Heavy Metals Removal from Landfill Leachate by Pleurotus Ostreatus. Waste and Biomass Valorization 2018;9(3):503–511; doi: 10.1007/s12649-017-0015-x.

Vaverková MD, Elbl J, Koda E, et al. Chemical Composition and Hazardous Effects of Leachate from the Active Municipal Solid Waste Landfill Surrounded by Farmlands. Sustain 2020;12(11):1–20; doi: 10.3390/su12114531.

Vélez CG, Letcher PM, Schultz S, et al. Three New Genera in Chytridiales from Aquatic Habitats in Argentina. Mycologia 2013;105(5):1251–1265; doi: 10.3852/12-353.

Verma R and Melcher U. A Support Vector Machine Based Method to Distinguish Proteobacterial Proteins from Eukaryotic Plant Proteins. BMC Bioinformatics 2012;13 Suppl 1(Suppl 15):S9; doi: 10.1186/1471-2105-13-s15-s9.

Viegas C, Nobre C, Mota A, et al. A Circular Approach for Landfill Leachate Treatment: Chemical Precipitation with Biomass Ash Followed by Bioremediation through Microalgae. J Environ Chem Eng 2021;9(3); doi: 10.1016/j.jece.2021.105187.

De Vos P, Garrity GM, Jones D, et al. Bergey's Manual of Systematic. 2009.

Wang H, He Q, Chen D, et al. Microbial Community in a Hydrogenotrophic Denitrification Reactor Based on Pyrosequencing. Appl Microbiol Biotechnol 2015;99(24):10829–10837; doi: 10.1007/s00253-015-6929-y.

Wang J, Zheng C, Mo L, et al. Assessment of Recycling Use of GFRP Powder as Replacement of Fly Ash in Geopolymer Paste and Concrete at Ambient and High Temperatures. Ceram Int 2022;48(10):14076–14090; doi: 10.1016/j.ceramint.2022.01.293.

Wang L and Shao Z. Aerobic Denitrification and Heterotrophic Sulfur Oxidation in the Genus Halomonas Revealed by Six Novel Species Characterizations and Genome-Based Analysis. Front Microbiol 2021;12(March); doi: 10.3389/fmicb.2021.652766.

Wang Q, Zhou G, Qin Y, et al. Sulfate Removal Performance and Co-Occurrence Patterns of Microbial Community in Constructed Wetlands Treating Saline Wastewater. J Water Process Eng 2021;43(June):102266; doi: 10.1016/j.jwpe.2021.102266.

Wang Y, Du Z, Liu Y, et al. The Nitrogen Removal and Sludge Reduction Performance of a Multi-Stage Anoxic/Oxic (A/O) Biofilm Reactor. Water Environ Res 2020;92(1):94–105; doi: 10.1002/wer.1188.

Watanabe M, Kojima H, Okano K, et al. Mariniplasma Anaerobium Gen. Nov., Sp. Nov., a Novel Anaerobic Marine Mollicute, and Proposal of Three Novel Genera to Reclassify Members of Acholeplasma Clusters Ii–Iv. Int J Syst Evol Microbiol 2021;71(12); doi: 10.1099/ijsem.0.005138.

Watkinson SC. Basidiomycota. eLS 2008;1–9; doi: 10.1002/9780470015902.a0000347.pub2.

Wdowczyk A, Szymańska-Pulikowska A and Domańska M. Analysis of the Bacterial Biocenosis of Activated Sludge Treated with Leachate from Municipal Landfills. Int J Environ Res Public Health 2022;19(3); doi: 10.3390/ijerph19031801.

Webster J. Tricellula Aquatica Sp.Nov., an Aquatic Hyphyomycete. Trans Br Mycol Soc 1959;42(4):416–420; doi: 10.1016/s0007-1536(59)80042-5.

Wei W, Chen K, Miao W, et al. Pseudocohnilembus Persalinus Genome Database - The First Genome Database of Facultative Scuticociliatosis Pathogens 06 Biological Sciences 0604 Genetics 08 Information and Computing Sciences 0806 Information Systems. BMC Genomics 2018;19(1):1–6; doi: 10.1186/s12864-018-5046-6.

Weisburg WG, Barns SM, Pelletier DA, et al. 16S Ribosomal DNA Amplification for Phylogenetic Study. J Bacteriol 1991;173(2):697–703; doi: 10.1128/jb.173.2.697-703.1991.

Weisse T, Jezberova J and Moser M. Picoplankton Feeding by the Ciliate Vorticella Similis in Comparison to Other Peritrichs Emphasizes Their Significance in the Water Purification Process. Ecol Indic 2021;121:106992; doi: 10.1016/j.ecolind.2020.106992.

Van Wichelen J, D'Hondt S, Claeys M, et al. A Hotspot of Amoebae Diversity: 8 New Naked Amoebae Associated with the Planktonic Bloom-Forming Cyanobacterium Microcystis. Acta Protozool 2016;55(2):61–87; doi: 10.4467/16890027AP.16.007.4942.

Wijayawardene NN, Hyde KD and Dai DQ. Outline of Ascomycota. Elsevier Ltd.; 2021.; doi: 10.1016/B978-0-12-819990-9.00064-0.

Wijekoon P, Koliyabandara PA, Cooray AT, et al. Progress and Prospects in Mitigation of Landfill Leachate Pollution: Risk, Pollution Potential, Treatment and Challenges. J Hazard

Mater 2022;421(February 2021):126627; doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.126627.

Williams JC and de los Reyes FL. Microbial Community Structure of Activated Sludge during Aerobic Granulation in an Annular Gap Bioreactor. Water Sci Technol 2006;54(1):139–146; doi: 10.2166/wst.2006.381.

Williams KP, Gillespie JJ, Sobral BWS, et al. Phylogeny of Gammaproteobacteria. J Bacteriol 2010;192(9):2305–2314; doi: 10.1128/JB.01480-09.

Wooley JC, Godzik A and Friedberg I. A Primer on Metagenomics. PLoS Comput Biol 2010;6(2); doi: 10.1371/journal.pcbi.1000667.

Wu C, Chen W, Gu Z, et al. A Review of the Characteristics of Fenton and Ozonation Systems in Landfill Leachate Treatment. Sci Total Environ 2021;762:143131; doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.143131.

Xu G and Shi X. Resources , Conservation & Recycling Characteristics and Applications of Fl y Ash as a Sustainable Construction Material : A State-of-the-Art Review. Resour Conserv Recycl 2018;136(August 2017):95–109; doi: 10.1016/j.resconrec.2018.04.010.

Xu H, Tong N, Huang S, et al. Simultaneous Autotrophic Removal of Sulphate and Nitrate at Different Voltages in a Bioelectrochemical Reactor (BER): Evaluation of Degradation Efficiency and Characterization of Microbial Communities. Bioresour Technol 2018;265(May):340–348; doi: 10.1016/j.biortech.2018.06.040.

Xu J. Microbial Ecology in the Age of Genomics and Metagenomics: Concepts, Tools, and Recent Advances. Mol Ecol 2006;15(7):1713–1731; doi: 10.1111/j.1365-294X.2006.02882.x.

Xu M, Hu Y, Qiu H, et al. Colpodella Sp. (Phylum Apicomplexa) Identified in Horses Shed Light on Its Potential Transmission and Zoonotic Pathogenicity. Front Microbiol 2022;13(April):1–5; doi: 10.3389/fmicb.2022.857752.

Xu X, Hao R, Xu H, et al. Removal Mechanism of Pb(II) by Penicillium Polonicum: Immobilization, Adsorption, and Bioaccumulation. Sci Rep 2020;10(1):1–12; doi: 10.1038/s41598-020-66025-6.

Xu Z, Li X, Tian J, et al. Leucobacter Chromiisoli Sp. Nov., Isolated from Chromiumcontaining Chemical Plant Soil. Int J Syst Evol Microbiol 2021;71(7):1–8; doi: 10.1099/ijsem.0.004923.

Yang J, Feng L, Pi S, et al. A Critical Review of Aerobic Denitrification: Insights into the Intracellular Electron Transfer. Sci Total Environ 2020;731:139080; doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.139080.

Yang Z and Zhou S. The Biological Treatment of Landfill Leachate Using a Simultaneous Aerobic and Anaerobic (SAA) Bio-Reactor System. Chemosphere 2008;72(11):1751–1756; doi: 10.1016/j.chemosphere.2008.04.090.

Yapo Atsé Alain. Caractérisation Physicochimique Du Lixiviat de La Décharge Publique d' Akouédo. Nangui Abrogoua; 2014.

Yong M, Yong-zhen P, Xiao-lian W, et al. Intelligent Control Aeration and External Carbon Addition for Improving Nitrogen Removal. 2006;21; doi: 10.1016/j.envsoft.2005.02.009.

Yong ZJ, Bashir MJK, Ng CA, et al. A Sequential Treatment of Intermediate Tropical Landfill Leachate Using a Sequencing Batch Reactor (SBR) and Coagulation. J Environ Manage 2018;205:244–252; doi: 10.1016/j.jenvman.2017.09.068.

Youcai Z. Leachate Generation and Characteristics. Pollut Control Technol Leachate from Munic Solid Waste 2018a;1–30; doi: 10.1016/b978-0-12-815813-5.00001-2.

Youcai Z. Leachate Treatment Engineering Processes. 2018b.; doi: 10.1016/b978-0-12-815813-5.00005-x.

Youssef NH, Farag IF, Rinke C, et al. In Silico Analysis of the Metabolic Potential and Niche Specialization of Candidate Phylum "Latescibacteria" (WS3). PLoS One 2015;10(6):1–21; doi: 10.1371/journal.pone.0127499.

Yuan C, Wang Y, Zhu T, et al. Multistage Biological Contact Oxidation for Landfill Leachate Treatment: Optimization and Bacteria Community Analysis. Int Biodeterior Biodegrad 2017;125:200–207; doi: 10.1016/j.ibiod.2017.09.008.

Yuanqiu H, Lijuan L and Xinpeng T. Overview of Research on Acidimicrobiia. 2020;47(6):1945–1957; doi: 10.13344/j.microbiol.china.190774.

Yurchenko E and Wu SH. Three New Species of Hyphodontia with Peg-like Hyphal Aggregations. Mycol Prog 2014;13(3):533–545; doi: 10.1007/s11557-013-0935-1.

Zahedi A, Greay TL, Paparini A, et al. Identification of Eukaryotic Microorganisms with 18S RRNA Next-Generation Sequencing in Wastewater Treatment Plants, with a More Targeted NGS Approach Required for Cryptosporidium Detection. Water Res 2019;158:301–312; doi: 10.1016/j.watres.2019.04.041.

Zaier H, Chmingui W, Rajhi H, et al. Evaluation De La Premiere Experience De Gestion Deleguee Des Dechets Menagers a Casablanca, Maroc. Sci Eaux Territ 2013;11(2):237–263.

Zakharova K, Tesei D, Marzban G, et al. Microcolonial Fungi on Rocks: A Life in Constant Drought? Mycopathologia 2013;175(5–6):537–547; doi: 10.1007/s11046-012-9592-1.

Zaouaq M and Zaouaq K. Le Droit et Les Politiques Applicables à La Gestion Des Déchets Plastiques Au Maroc. J du droit l'environnement du développement 2019.

Zare N, Bonakdarpour B, Amoozegar MA, et al. Using Enriched Water and Soil-Based Indigenous Halophilic Consortia of an Oilfield for the Biological Removal of Organic Pollutants in Hypersaline Produced Water Generated in the Same Oilfield. Process Saf Environ Prot 2019;127:151–161; doi: 10.1016/j.psep.2019.04.024.

Zened A. Particularités Du Microbiote et Son Activité Lors de La Déviation de La Biohydrogénation Ruminale de l'acide Linoléique de La Voie Trans-11 à La Voie Trans-10. 2011.

Žgajnar Gotvajn A and Pavko A. Perspectives on Biological Treatment of Sanitary Landfill Leachate. Wastewater Treat Eng 2015; doi: 10.5772/60924.

Zhang B, Wang L and Li R. Bioconversion and Chemical Conversion of Biogas for Fuel Production. Elsevier Inc.; 2019a.; doi: 10.1016/B978-0-12-817941-3.00010-3.

Zhang B, Wu X, Tai X, et al. Variation in Actinobacterial Community Composition and Potential Function in Different Soil Ecosystems Belonging to the Arid Heihe River Basin of Northwest China. Front Microbiol 2019b;10(September):1–11; doi: 10.3389/fmicb.2019.02209.

Zhang H, Sekiguchi Y, Hanada S, et al. Gemmatimonas Aurantiaca Gen. Nov., Sp. Nov., a Gram-Negative, Aerobic, Polyphosphate-Accumulating Micro-Organism, the First Cultured Representative of the New Bacterial Phylum Gemmatimonadetes Phyl. Nov. Int J Syst Evol

Microbiol 2003;53(4):1155–1163; doi: 10.1099/ijs.0.02520-0.

Zhang K. Surveillance Des Sels Nutritifs Dans Les Rivières Du Finistère. 2016.

Zhang L, Fu G and Zhang Z. Simultaneous Nutrient and Carbon Removal and Electricity Generation in Self-Buffered Biocathode Microbial Fuel Cell for High-Salinity Mustard Tuber Wastewater Treatment. Bioresour Technol 2019c;272:105–113; doi: 10.1016/j.biortech.2018.10.012.

Zhang QQ, Tian BH, Zhang X, et al. Investigation on Characteristics of Leachate and Concentrated Leachate in Three Landfill Leachate Treatment Plants. Waste Manag 2013;33(11):2277–2286; doi: 10.1016/j.wasman.2013.07.021.

Zhang Y, Li M, Dong L, et al. Effects of Biochar Dosage on Treatment Performance, Enzyme Activity and Microbial Community in Aerated Constructed Wetlands for Treating Low C/N Domestic Sewage. Environ Technol Innov 2021;24:101919; doi: 10.1016/j.eti.2021.101919.

Zhang Y, Maignien L, Zhao X, et al. Enrichment of a Microbial Community Performing Anaerobic Oxidation of Methane in a Continuous High-Pressure Bioreactor. BMC Microbiol 2011;11:2–9; doi: 10.1186/1471-2180-11-137.

Zhao JS, Manno D and Hawari J. Psychrilyobacter Atlanticus Gen. Nov., Sp. Nov., a Marine Member of the Phylum Fusobacteria That Produces H2 and Degrades Nitramine Explosives under Low Temperature Conditions. Int J Syst Evol Microbiol 2009a;59(3):491–497; doi: 10.1099/ijs.0.65263-0.

Zhao S, Hu N, Chen Z, et al. Bioremediation of Reclaimed Wastewater Used as Landscape Water by Using the Denitrifying Bacterium Bacillus Cereus. Bull Environ Contam Toxicol 2009b;83(3):337–340; doi: 10.1007/s00128-009-9684-x.

Zheng B, Wang L and Liu L. Bacterial Community Structure and Its Regulating Factors in the Intertidal Sediment along the Liaodong Bay of Bohai Sea, China. Microbiol Res 2014;169(7–8):585–592; doi: 10.1016/j.micres.2013.09.019.

Zhou Q, Sun H, Jia L, et al. Enhanced Pollutant Removal from Rural Non-Point Source Wastewater Using a Two-Stage Multi-Soil-Layering System with Blended Carbon Sources: Insights into Functional Genes, Microbial Community Structure and Metabolic Function. Chemosphere 2021;275:130007; doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.130007.

Zouboulis AI, Jun W and Katsoyiannis IA. Removal of Humic Acids by Flotation. Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp 2003;231(1–3):181–193; doi: 10.1016/j.colsurfa.2003.09.004.

Annexes
Normes Marocaines de rejet en 2018

Tableau annexé à l'arrêté conjoint du ministre de l'intérieur, du ministre de l'énergie, des mines, de l'eau et de l'environnement, du ministre de l'industrie, du commerce et des nouvelles technologies et du ministre de l'artisanat n° 2942-13 du 1er hija 1434 (7 octobre 2013) fixant les valeurs limites générales de rejet dans les eaux superficielles ou souterraines

Paramètres	Valeurs limites générales de rejet dans les eaux superficielles ou souterraines.
Température (°C)	30
pH	5.5-8.5
MES (mg/l)	30
Azote kjeldhal (mg N/l)	40
Phosphore total (mg P/l)	2
DCO (mg O_2/l)	120
DBO_5 (mg O_2/l)	40
Chlore actif (Cl_2) (mg/l)	1
Dioxyde de chlore (ClO_2) (mg/l)	0.05
Aluminium (Al) (mg/l)	10
Détergents (anionique, cationique et ionique) (mg/l)	2
Conductivité électrique (µS/cm)	2700
Salmonelles/5000 ml	Absence
Vibrions cholériques/5000 ml	Absence
Cyanures libres (CN^-) (mg/l)	0.1
Sulfates (SO_4^{2-}) mg/l	500
Sulfures libres (S^{2-}) (mg/l)	0.5
Fluorures (F^-) (mg/l)	3
Indice de Phénols (mg/l)	0.5
Hydrocarbures par Infra-rouge (mg/l)	20
Huiles et graisses (mg/l)	20
Antimoine (Sb) (mg/l)	0.1
Argent (Ag) (mg/l)	0.05
Arsenic (As) (mg/l)	0.05
Baryum (Ba) (mg/l)	0.5
Cadmium (Cd) (mg/l)	0.2
Cobalt (Co) (mg/l)	0.1
Cuivre total (Cu) (mg/l)	3
Mercure total (Hg) (mg/l)	0.01
Plomb total (Pb) (mg/l)	1
Chrome total (Cr) (mg/l)	0.5
Chrome hexavalent (Cr^{6+}) (mg/l)	0.1
Etain total (Sn) (mg/l)	2
Manganese (Mn) (mg/l)	1
Nickel total (Ni) (mg/l)	5
Sélénium (Se) (mg/l)	0.05
Zinc total (Zn) (mg/l)	5
Fer (Fe) (mg/l)	5
AOX	5

DCO : demande chimique en oxygène ; **MES** : matières en suspension ;
DBO5 : demande biochimique en oxygène durant cinq (5) jours ;
AOX : composés organo-halogénés adsorbables sur charbon actif.

Le texte en langue arabe a été publié dans l'édition générale du « Bulletin officiel » n° 6199 du 22 hija 1434 (28 octobre 2013).

Bacillus licheniformis

```
   1 cacgccgcgt gagtgatgaa ggttttcgga tcgtaaaact ctgttgttag ggaagaacaa
  61 gtaccgttcg aatagggcgg caccttgacg gtacctaacc agaaagccac ggctaactac
 121 gtgccagcag ccgcggtaat acgtaggtgg caagcgttgt ccggaattat tgggcgtaaa
 181 gcgcgcgcag gcggtttctt aagtctgatg tgaaagcccc cggctcaacc ggggagggtc
 241 attggaaact ggggaacttg agtgcagaag aggagagtgg aattccacgt gtagcggtga
 301 aatgcgtaga gatgtggagg aacaccagtg gcgaaggcga ctctctggtc tgtaactgac
 361 gctgaggcgc gaaagcgtgg ggagcgaaca ggattagata ccctggtagt ccacgccgta
 421 aacgatgagt gctaagtgtt agagggtttc cgcccttag tgctgcagca aacgcattaa
 481 gcactccgcc tggggagtac ggtcgcaaga ctgaaactca aaggaattga cgggggcccg
 541 cacaagcggt ggagcatgtg gtttaattcg aagcaacgcg aagaacctta ccaggtcttg
 601 acatcctctg acaaccctag agatagggct tcccccttcgg gggcagagtg acaggtggtg
 661 catggttgtc gtcagctcgt gtcgtgagat gttgggttaa gtcccgcaac gagcgcaacc
 721 cttgatctta gttgccagca ttcagttggg cactctaagg tgactgccgg tgacaaaccg
 781 gaggaaggtg gggatgacgt caaatcatca tgccccttat gacctgggct acacacgtgc
 841 tacaatgggc agaacaaagg gcagcgaagc cgcgaggcta agccaatccc acaaatctgt
 901 tctcagttcg gatcgcagtc tgcaactcga ctgcgtgaag ctgggaatcg ctagtaatcg
```

Bacillus mojavensis

```
   1 tctgacggag cacgccgcgt gagtgatgaa ggttttcgga tcgtaaagct ctgttgttag
  61 ggaagaacaa gtaccgttcg aatagggcgg taccttgacg gtacctaacc agaaagccac
 121 ggctaactac gtgccagcag ccgcggtaat acgtaggtgg caagcgttgt ccggaattat
 181 tgggcgtaaa gggctcgcag gcggttcctt aagtctgatg tgaaagcccc cggctcaacc
 241 ggggagggtc attggaaact ggggaacttg agtgcagaag aggagagtgg aattccacgt
 301 gtagcggtga aatgcgtaga gatgtggagg aacaccagtg gcgaaggcga ctctctggtc
 361 tgtaactgac gctgaggagc gaaagcgtgg ggagcgaaca ggattagata ccctggtagt
 421 ccacgccgta aacgatgagt gctaagtgtt agggggtttc cgccccttag tgctgcagct
 481 aacgcattaa gcactccgcc tggggagtac ggtcgcaaga ctgaaactca aaggaattga
 541 cgggggcccg cacaagcggt ggagcatgtg gtttaattcg aagcaacgcg aagaacctta
 601 ccaggtcttg acatcctctg acaatcctag agataggacg tccccttcgg gggcagagtg
 661 acaggtggtg catggttgtc gtcagctcgt gtcgtgagat gttgggttaa gtcccgcaac
 721 gagcgcaacc cttgatctta gttgccagca ttcagttggg cactctaagg tgactgccgg
 781 tgacaaaccg
```

Bacillus subtilis

```
   1 agcacgccgc gtgagtgatg aaggttttcg gatcgtaaag ctctgttgtt agggaagaac
  61 aagtaccgtt cgaatagggc ggtaccttga cggtacctaa ccagaaagcc acggctaact
 121 acgtgccagc agccgcggta atacgtaggt ggcaagcgtt gtccggaatt attgggcgta
 181 aagggctcgc aggcggtttc ttaagtctga tgtgaaagcc cccggctcaa ccggggaggg
 241 tcattggaaa ctggggaact tgagtgcaga agaggagagt ggaattccac gtgtagcggt
 301 gaaatgcgta gagatgtgga ggaacaccag tggcgaaggc gactctctgg tctgtaactg
 361 acgctgagga gcgaaagcgt ggggagcgaa caggattaga taccctggta gtccacgccg
 421 taaacgatga gtgctaagtg ttatggggtt tccgcccctc agtgctgcag ctaacgcatt
 481 aagcactccg cctggggagt acggtcgcaa gactgaaact caaaggaatt gacgggggcc
 541 cgcacaagcg gtggagcatg tggtttaatt cgaagcaacg cgaagaacct taccaggtct
 601 tgacatcctc tgacaatcct agagatagga cgtcccccttc gggggcagag tgacaggtgg
 661 tgcatggttg tcgtcagctc gtgtcgtgag atgttgggtt aagtcccgca acgagcgcaa
 721 cccttgatct tagttgccag cattcagttg ggcactctaa ggtgactgcc ggtgacaaac
 781 cggaggaagg tggggatgac gtcaaatcat catgcccctt atgacctggg ctacacacgt
 841 gctacaatgg acagaacaaa gggcagcgaa acccgcgagg ttaagcccaa tcccacaatc
```

Myroides sp.

```
   1 cagccatgcc gcgtgcagga tgacggtcct atggattgta aactgctttt gtacgggaag
  61 aaatgtgcct acgagtaggt atttgacggt accgtaagaa taaggatcgg ctaactccgt
 121 gccagcagcc gcggtaatac ggaggatccg agcgttatcc ggaattattg ggtttaaagg
 181 gttcgtaggc ggtcagataa gtcagtggtg aaatctcata gcttaactat gaaactgccg
 241 ttgatactgt ttgacttgaa tagtatggaa gtaactagaa tatgtagtgt agcggtgaaa
 301 tgcttagata ttacatggaa taccaattgc gaaggcaggt tactacgtac ttattgacgc
 361 tgatgaacga aagcgtgggt agcgaacagg attagatacc ctggtagtcc acgccgtaaa
 421 cgatggatac tagctgttcg gttttcggac tgagtggcta agcgaaagtg ataagtatcc
 481 cacctgggga gtacgttcgc aagaatgaaa ctcaaaggaa ttgacggggg cccgcacaag
 541 cggtggagca tgtggtttaa ttcgatgata cgcgaggaac cttaccaggg cttaaatgta
 601 gattgacagg tttggaaaca gacttttctt cggacaattt acaaggtgct gcatggttgt
 661 cgtcagctcg tgccgtgagg tgtcaggtta agtcctataa cgagcgcaac ccctattgtt
 721 agttaccatc gcgttaaggc ggggactcta gcaagactgc cggtgcaaac cgagaggaag
 781 gtggggatga cgtcaaatca tcacggccct tacgtcctgg gctacacacg tgctacaatg
 841 gcaagtacag aaagcagcta cctggcaaca ggatgcgaat
```

Bacillus halotolerans

```
   1 ttattcgaag caacgcgaag aaccttacca ggtcttgaca tcctctgaca atcctagaga
  61 taggacgtcc ccttcggggg cagagtgaca ggtggtgcat ggttgtcgtc agctcgtgtc
 121 gtgagatgtt gggttaagtc ccgcaacgag cgcaaccctt gatcttagtt gccagcattc
 181 agttgggcac tctaaggtga ctgccggtga caaaccggag gaaggtgggg atgacgtcaa
 241 atcatcatgc cccttatgac ctgggctaca cacgtgctac aatggacaga acaaagggca
 301 gcgaaaccgc gaggttaagc caatcccaca aatctgttct cagttcggat cgcagtctgc
 361 aactcgactg cgtgaagctg gaatcgctag taatcgcgga tcagcatgcc gcggtgaata
 421 cgttcccggg ccttgtacac accgcccgtc acaccacgag agtttgtaac acccgaagtc
 481 ggtgaggtaa cctttatgga gccagccgcc gaaggtggga cagatgattg gggtgaagtc
```

Bacillus proteolyticus

```
   1 gacatgtggt ttattcgaag caacgcgaag aaccttacca ggtcttgaca tcctctgaca
  61 accctagaga tagggcttcc ccttcgggaa cagagtgaca ggtggtgcat ggttgtcgtc
 121 agctcgtgtc gtgagatgtt gggttaagtc ccgcaacgag cgcaaccctt gatcttagtt
 181 gccatcatta agttgggcac tctaaggtga ctgccggtga caaaccggag gaaggtgggg
 241 atgacgtcaa atcatcatgc cccttatgac ctgggctaca cacgtgctac aatggacgga
 301 acaaagagct gcaagaccgc gaggtggagc taatctcata aaaccgttct cagttcggat
 361 tgtaggctgc aactcgactg catgaagctg gaatcgctag taatcgcgga tcagcatgcc
 421 gcggtgaata cgttcccggg ccttgtacac accgcccgtc acaccacgag agtttgtaac
 481 acccgaagtc ggtgaggtaa cctttttgga gccagccgcc taaggtggga cagatgattg
 541 gggtgaagtc gtaacaaggg tagccgtaa
```

Bacillus thuringiensis

```
   1 gcgtgagtga tgaaggcttt cgcggtcgta aaactctgtt gttagggaag aacaagtgct
  61 agttgaataa gctggcacct tgacggtacc taaccagaaa gccacggcta actacgtgcc
 121 agcagccgcg gtaatacgta ggtggcaagc gttatccgga attattgggc gtaaagcgcg
 181 cgcaggtggt ttcttaagtc tgatgtgaaa gcccacggct caaccgtgga gggtcattgg
 241 aaactgggag acttgagtgc agaagaggaa agtggaattc catgtgtagc ggtgaaatgc
 301 gtagagatat ggaggaacac cagtggcgaa ggcgactttc tggtctgtaa ctgacactga
 361 ggcgcgaaag cgtggggagc aaacaggatt agataccctg gtagtccacg ccgtaaacga
 421 tgagtgctaa gtgttagagg gtttccgccc tttagtgctg aagttaacgc attaagcact
 481 ccgcctgggg agtacggccg caaggctgaa actcaaagga attgacgggg gcccgcacaa
 541 gcggtggagc atgtggttta attcgaagca acgcgaagaa ccttaccagg tcttgacatc
 601 ctctgaaaac cctagagata gggcttctcc ttcgggagca gagtgacagg tggtgcatgg
 661 ttgtcgtcag ctcgtgtcgt gagatgttgg gttaagtccc gcaacgagcg caacccttga
 721 tcttagttgc catcattaag ttgggcactc taaggtgact gccggtgaca aaccggagga
 781 aggtggggat gacgtcaaat catcatgccc cttatgacct gggctacaca cgtgctacaa
 841 tggacggtac aaagagctgc aagaccgcga ggtggagcta atctcataaa accgtttctc
 901 agtttcggat tgtaggctgc aactcgccta catgaaagct gggaatcgct agtaatcgcg
 961 gatcagcatg ccgcgttgat acgtcccggg ctgtacacac
```

Bacillus cereus

```
   1 gtctgacggc agcacgccgc gtgagtgatg aaggctttcg cggtcgtaaa actctgttgt
  61 tagggaagaa caagtgctag ttgaataagc tggcaccttg acggtaccta accagaaagc
 121 cacggctaac tacgtgccag cagccgcggt aatacgtagg tggcaagcgt tatccggaat
 181 tattgggcgt aaagcgcgcg caggtggttt cttaagtctg atgtgaaagc ccacggctca
 241 accgtggagg gtcattggaa actgggagac ttgagtgcag aagaggaaag tggaattcca
 301 tgtgtagcgg tgaaatgcgt agagatatgg aggaacacca gtggcgaagg cgactttctg
 361 gtctgtaact gacactgagg cgcgaaagcg tggggagcaa acaggattag ataccctggt
 421 agtccacgcc gtaaacgatg agtgctaagt gttagagggt ttccgcccct tagtgctgaa
 481 gttaacgcat taagcactcc gcctggggag tacggccgca aggctgaaac tcaaaggaat
 541 tgacgggggc ccgcacaagc ggtggagcat gtggtttaat tcgaagcaac gcgaagaacc
 601 ttaccaggtc ttgacatcct ctgaaaaccc tagagatagg gcttctcctt cgggagcaga
 661 gtgacaggtg gtgcatggtt gtcgtcagct cgtgtcgtga gatgttgggt taagtcccgc
 721 aacgagcgca acccttgatc ttagttgcca tcattaagtt gggcactcta aggtgactgc
 781 cggtgacaaa ccggaggaag gtggggatga cgtcaaatca tcatgccccc tatgacctgg
 841 gctacacacg tgctacaatg gacggtacaa agagctgcaa gaccgcgagg tggagctaat
 901 ctcataaaac cgttctcagt ttcggattgt aggctgcaac tcgctacatg aagctgggat
 961 cgctagttat tcgcggatca gcatgccgcg atgatacgtc
```