

Accumulation des éléments traces métalliques par le ray-grass (*Lolium perenne*) cultivé sur des sols amendés par des boues de stations d'épuration

Ahmed Nejmeddine ¹
A. Echab ¹
S. Fars ¹
M. Hafidi ²

¹ Laboratoire d'écotoxicologie,
Département de biologie,
Faculté des sciences Semlalia,
BP 2390,
Marrakech,
Maroc
<nejmeddine@ucam.ac.ma>

² Laboratoire sol-environnement,
Département de biologie,
Faculté des sciences Semlalia,
BP 2390,
Marrakech,
Maroc

Résumé

Nous nous sommes intéressés à l'étude de l'effet de l'épandage de deux types de boues résiduelles (boues de lagunage et boues activées) sur l'accumulation de certains éléments traces métalliques (Pb, Cu, Zn et Cd) dans une culture de ray-grass. Les résultats montrent que la production de matière sèche de ray-grass est augmentée suite à l'épandage de ces déchets. En revanche, l'apport de boues entraîne une augmentation de l'accumulation des éléments traces métalliques dans le ray-grass aussi bien pour la boue de lagunage que pour la boue activée. Cette augmentation renseigne sur les risques causés à long terme par l'épandage de ces déchets. Par ailleurs, l'accumulation des éléments traces métalliques par le ray-grass est influencée par le type de boue. Cet effet est variable en fonction du métal et serait en rapport avec la forme chimique de ce dernier dans les boues considérées.

Mots clés : Composants chimiques ; Physiologie végétale ; Agronomie.

Summary

Accumulation of trace elements by ryegrass grown on soils amended by sewage sludge

There has been a net increase in the spreading of sewage sludge on agricultural soils in these last decades. Sewage sludges are used as a means of improving soil fertility and crop production. However, these wastes may contain pathogenic micropollutants and toxic elements, trace elements in particular. These nonbiodegradable elements can be accumulated in soils and can be absorbed by crops and transferred along trophic chains thus constituting a risk of human contamination in particular and in other compartments of the environment in general. To study the effect of sewage sludges, we followed the accumulation of some trace element (Pb, Cu, Zn, and Cd) resulting from two types of sewage sludge (anaerobic lagoon's sludge and activated sludge) in a culture of ryegrass. To that purpose, samples of a sandy-loam soil were amended with two types of sewage sludge at rates of 0, 10 and 20 t.ha⁻¹, corresponding to control, D1, and D2, respectively. After sewage sludge spreading, ryegrass was sown and 5 cuts were performed. Samples were analyzed for their contents in trace elements.

Results show that the quantity of dry matter (DM) produced 5 months after the beginning of the experiment increased significantly following sewage sludge spreading whether it be anaerobic lagoon's sludge or activated sludge.

The heavy metal contents in the ryegrass shoots showed that Pb fluctuated between 1.85 and 6.45 mg.kg⁻¹ DM. Copper was observed at levels of 4.08 to 16.49 mg.kg⁻¹ DM. The contents of Zn fluctuated between 35.60 and 85.60 mg.kg⁻¹ DM while Cd levels did not exceed 0.94 mg.kg⁻¹ DM according to the cut, rate and type of sewage sludge.

The analysis of the results showed that sewage sludge spreading generally involved an increase of the trace element contents in ryegrass as much for lagoon sludge as for activated sludge, comparatively to the control. Moreover, the contents observed increased as the amount sewage sludge increased.

Furthermore, the contents in Zn and especially in Cd recorded in ryegrass cultivated on activated sludge-amended soil were generally superior to those observed in the ryegrass cultivated on lagoon sludge-amended soil. Conversely, those of Pb and Cu were not significantly affected by the type of sludge. Indeed, the metal composition of both sewage sludge types showed that activated sludges contained more Zn and Cd (2,980.0 and 7.7 mg.kg⁻¹, respectively) than lagoon sludges (2,421.0 and 4.47 mg.kg⁻¹, respectively),

while they contained comparable contents in Pb and Cu. Furthermore, the analysis of activated sludge showed that 15 and 40 % of total Zn and Cd, respectively, against only 11 and 26 % in lagoon sludge were present under exchangeable form (extracted by CaCl_2 0.1M), which is generally considered by several authors, as bioavailable to crops.

Also, a fluctuation was observed in ryegrass trace elements contents from one cut to the other. However, we noted an increase of Pb and Zn bioavailability against a decrease in Cu and Cd during the last cuts. The increase of Pb and Zn contents in ryegrass over time would therefore be explained by the increase of available metal in the soil solution.

On the other hand, the results showed that ryegrass contents, especially in Cd, could be higher than the US National Research Council threshold value fixed at 0.5 mg.kg^{-1} . So, a treatment of sewage sludge which could reduce heavy metal bioavailability would be mandatory before such wastes are spread on agricultural lands.

Key words: Chemical characteristics; Vegetal physiology; Agronomy.

L'épandage des boues de stations d'épuration des eaux usées en agriculture est en net accroissement ces dernières décennies. Ces boues peuvent être utilisées pour améliorer la fertilité des sols et la production des cultures [1-5]. Cette pratique est une des voies de recyclage des déchets organiques. Cependant, elle doit être conditionnée par la composition des boues. En effet, en plus des odeurs nauséabondes, les boues peuvent contenir des micropolluants pathogènes et des éléments toxiques, en particulier des éléments traces métalliques [6]. Ces éléments, non biodégradables, peuvent s'accumuler dans les sols et, sous certaines conditions, migrer dans les horizons profonds [7, 8] et se trouver ainsi à la base d'un risque de contamination des nappes phréatiques. Ces éléments traces métalliques peuvent être absorbés par les végétaux cultivés sur les sols amendés par les boues et être transférés le long des chaînes trophiques, constituant ainsi un risque de contamination de l'homme [9, 10]. Afin de minimiser ces risques, des normes relatives à l'épandage des boues fixent les teneurs limites en éléments traces métalliques dans ces déchets et dans les sols susceptibles de recevoir ces épandages [11].

Le comportement des éléments traces métalliques dans le système sol-plante est gouverné par la nature et les caractéristiques physico-chimiques des sols et des boues utilisées ainsi que de l'espèce et de la variété des plantes. Ces caractéristiques sont responsables de la forme chimique des éléments traces, pouvant donc soit augmenter soit diminuer leur disponibilité aux plantes [2, 12, 13].

Nous avons suivi expérimentalement l'accumulation, par le ray-grass, des éléments traces métalliques (Pb, Cu, Zn et Cd)

contenus dans deux types de boues provenant de deux systèmes de traitement des eaux usées (lagunage anaérobie et système à boue activée).

Matériel et méthode

Matériaux utilisés

Sol

Il s'agit d'un sol sablo-limoneux prélevé dans un jardin expérimental aménagé à la faculté des sciences Semlalia de Marrakech pour les études sur le traitement et la valorisation des eaux usées et boues résiduelles. Les caractéristiques physico-

chimiques de ce sol sont illustrées dans le *tableau 1*.

Boues

Les boues utilisées proviennent de deux systèmes d'épuration des eaux usées : lagunage anaérobie et boue activée. Le premier traite une partie des eaux usées urbaines de la ville de Marrakech et le second traite les eaux usées domestiques d'un quartier résidentiel des agents d'un site phosphatier. Ces deux systèmes sont recommandés pour l'épuration des eaux usées de plusieurs collectivités locales à l'échelle nationale. Les deux boues contiennent des teneurs en azote comparables. La teneur en phosphore total dans les boues activées est supérieure à celle qui est mesurée dans les boues de lagu-

Tableau 1. Caractéristiques physico-chimiques du sol.

Table 1. Physico-chemical characteristics of the soil.

Paramètre	Sol
Argile (%)	13
Limon (%)	28
Sable (%)	47
pH	8,0
C.Org (mg/g MS)	20,6
NTK (mg/g MS)	1,6
C/N	13,2
PT (mg/g MS)	1,1
P Olsen (mg/g MS)	0,06
Somme des bases échangeables (méq/100g)	15,5
CaCO_3 (mg/g MS)	18,4
Pb (mg/kg MS)	45,75
Cu (mg/kg MS)	23,65
Zn (mg/kg MS)	120,3
Cd (mg/kg MS)	0,28

NTK : azote total kjeldahl ; PT : phosphore total ; C. Org : Carbone organique ; C/N : Rapport carbone/azote ; MS : Matière sèche.

Tableau 2. Caractéristiques physico-chimiques des boues.

Table 2. Physico-chemical characteristics of sewage sludges.

	BL	BA
pH	7,1	7,0
C. Org. (mg/g MS)	204,2	169,7
NTK (mg/kg MS)	15,0	14,6
PT (mg/kg MS)	2,6	4,2
Pb (mg/kg MS)	79,2	71,4
Cu (mg/kg MS)	336,1	305,4
Zn (mg/kg MS)	2 421,0	2 980,0
Cd (mg/Kg MS)	4,49	7,70

C. Org. : carbone organique ; NTK : azote total kjeldahl ; PT : phosphore total ; BL : boue de lagunage ; BA : boue activée.

nage. Les concentrations en Pb et Cu dans les deux boues sont comparables. Celles du Zn et Cd dans la boue activée sont supérieures à celles de la boue de lagunage (tableau 2). Cela peut être dû à l'apport de résidus chargés en ces éléments par les ouvriers des chantiers d'extraction minière.

Protocole expérimental

Sur des échantillons de deux kilogrammes de matière sèche (MS) de sol, tamisé à 2 mm et mis dans des pots en plastique (14 cm de diamètre, 25 cm de hauteur), ont été additionnées des quantités de boues séchées à l'air libre après curage des bassins des deux systèmes de traitement des eaux usées. Ces quantités correspondent à des épandages de 0 (témoin), 10 (D1) et 20 (D2) tonnes de MS par hectare, sans tenir compte de la densité du sol. Pour chaque dose de boue testée, quatre répétitions ont été effectuées. Après l'épandage, du ray-grass (*Lolium perenne* var. *maprima*) a été semé à raison de 1 g de semence/pot. L'expérience a été réalisée dans les conditions climatiques naturelles de la ville de Marrakech pendant la période s'étalant de septembre 1996 à février 1997. L'irrigation se fait de façon à maintenir la terre à 90 % de la capacité au champ. Le ray-grass est utilisé comme plante test dans cette étude pour i) sa facilité de culture ; ii) la possibilité de réaliser plusieurs coupes sur la même culture permettant ainsi d'étudier la phytoaccumulation des éléments traces métalliques au cours du temps ; et iii) les données accessibles dans la littérature qui permettent de comparer les résultats. Durant cette étude, cinq coupes ont été réalisées. La première coupe a eu lieu 40 jours après la mise en culture. Les autres coupes ont été réali-

sées chacune un mois après celle qui l'a précédé. Toute la partie aérienne du ray-grass récoltée de chaque pot est lavée abondamment à l'eau distillée et séchée à 80 °C pendant 17 heures.

Méthodes de minéralisation

Le dosage des éléments traces métalliques dans la matière sèche récoltée a été réalisé par spectrophotométrie d'absorption atomique après minéralisation des échantillons selon la méthode de Tausin et Juste [14]. En effet, 2 g de matière sèche du végétal ont été calcinés dans un four à 450 °C durant 4 heures. Les cendres ont été mouillées avec quelques gouttes d'acide nitrique (14 N), séchées à l'étuve et remises au four à 450 °C pendant une heure. Le résidu obtenu a été repris par 5 mL de HCl (36 N) et ramené à sec par chauffage sur un bain de sable. La dissolution du résidu a été faite avec 5 mL de HCl à 5 % à chaud pendant 15 minutes. La solution obtenue a été ajustée à 10 mL par l'eau distillée.

Extraction au CaCl₂

La fraction échangeable des éléments métalliques traces est extraite des boues par une solution de CaCl₂ (0,1M). On met 5 g de boue dans 25 mL de CaCl₂. Le mélange est soumis en agitation mécanique pendant 16 heures. La suspension d'équilibre obtenue est centrifugée à 3 000 g pendant 20 min. Le surnageant est filtré à 0,45 µm. La fraction échangeable est dosée par spectrophotométrie d'absorption atomique dans le filtrat.

Analyse statistique

Les analyses statistiques réalisées sont l'analyse de la variance (test ANOVA)

suivi du test de Newman-Keuls. Elles sont effectuées à l'aide du logiciel STAT-ITCF. Cette analyse permet de rassembler les groupes homogènes. Les valeurs qui ne sont pas statistiquement différentes sont affectées de la même lettre.

Résultats et discussion

Production de matière sèche

La quantité de matière sèche cumulée de ray-grass produite après 5 mois augmente significativement après l'apport de boue de lagunage ou de boue activée. L'épandage de la boue de lagunage augmente la production de matière sèche pour les doses de boues 10 et 20 t/ha de respectivement 11,2 et de 14,4 % alors que les boues activées entraînent une augmentation de 11,3 et de 19,6 %. Pour la dose 20 t/ha, l'augmentation induite par les boues activées semble être légèrement supérieure à celle qui est induite par les boues de lagunage. Mais cette différence reste non significative (tableau 3). Plusieurs travaux ont montré que l'épandage des boues améliore la production de biomasse [3-5, 15, 16]. Gardiner *et al.* [3] ont montré que l'effet des types de boues sur la production de matière sèche dépend de leurs caractéristiques physico-chimiques. Sommers *et al.* [17] ont fait valoir que cet effet est lié à la composition chimique des boues surtout en éléments fertilisants, azote et phosphore, en particulier. Dans la présente étude, les deux boues contiennent des teneurs en azote comparables. La teneur en phosphore total de la boue activée est supérieure à celle de la boue de lagunage (respectivement 4,2 contre 2,6 mg/kg MS). Cela pourrait expliquer la différence de biomasse récoltée du sol amendé par la dose de boues de 20 t/ha.

Phytoaccumulation des éléments traces métalliques dans le ray-grass

Les résultats du dosage des éléments traces métalliques dans la partie aérienne du ray-grass sont illustrés dans le tableau 4. Sur les cinq coupes, les teneurs en Pb dans le ray-grass varient de 2,11 à 5,53 mg/kg pour le sol amendé par la boue de lagunage et de 2,16 à 6,45 mg/kg pour le sol amendé par la boue activée.

Tableau 3. Effet de l'apport de boue sur la production cumulée de matière sèche de ray-grass (t/ha).

Table 3. Effect of sewage sludge spreading on the cumulated dry matter production of ryegrass (t/ha).

Dose	BL	% d'amélioration	BA	% d'amélioration
Témoin	3,58 b	/	3,58 b	/
D1	4,03 a	11,2	4,06 a	11,3
D2	4,18 a	14,4	4,45 a	19,6

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%. D1 = 10 t/ha ; D2 = 20 t/ha.

Pour le sol témoin sans boues, la teneur en Pb dans le ray-grass varie de 1,85 à 4,66 mg/kg MS.

Les teneurs en cuivre vont de 5,51 à 16,49 mg/kg dans le ray-grass cultivé sur le sol amendé par la boue de lagunage et de 6,81 à 11,29 mg/kg pour le sol amendé par la boue activée. Ces teneurs varient de 4,08 à 9,73 mg/kg pour le ray-grass cultivé sur le sol témoin.

Les teneurs en Zn fluctuent entre 35,71 et 79,46 mg/kg dans le ray-grass cultivé sur le sol amendé par la boue de lagunage et entre 43,46 et 85,60 mg/kg dans le ray-grass cultivé sur le sol amendé par la boue activée. Pour les échantillons témoins, elles varient de 35,60 à 58,01 mg/kg.

Les teneurs en Cd dans le ray-grass varient de 0,09 à 0,64 mg/kg pour le sol

amendé par la boue de lagunage et de 0,17 à 0,94 mg/kg pour le sol amendé par la boue activée. Pour le sol témoin, les teneurs en Cd dans le ray-grass ne dépassent pas 0,24 mg/kg.

En général, l'apport de boue augmente les teneurs en Cu, Zn, Cd dans le ray-grass par comparaison avec le témoin non amendé, notamment à partir de la coupe C3. Cette augmentation est plus importante lorsque la dose de boue appliquée augmente, mais celle-ci n'est pas toujours significative. Ces résultats sont observés aussi bien pour la boue de lagunage que pour la boue activée (tableau 4). Plusieurs auteurs ont montré que l'épandage des boues sur les sols agricoles augmente l'accumulation des éléments traces métalliques dans les cultures. Ce fait a été démontré par Hooda *et al.* [12, 15] pour le ray-grass, par Morel *et al.*, pour le maïs [2], et par Miller *et al.* pour l'alfalfa [5]. Les boues résiduelles constituent un apport supplémentaire d'éléments traces métalliques pour le ray-grass cultivé sur les sols amendés par ces boues [4, 16, 18].

Les teneurs en Pb (coupe C5 pour une dose de boue de 20 t/ha), en Zn (coupe C4 pour une dose de boue de 10 t/ha) et en Cd (coupes C2 et C3 pour les deux doses de boue), dans le ray-grass cultivé sur le sol amendé par la boue activée sont significativement supérieures à celles observées sur le sol amendé par la boue de lagunage. En revanche, les teneurs en Cu, à la coupe C3 pour les deux doses de boue, dans le ray-grass cultivé sur le sol amendé par la boue de lagunage sont supérieures à celles trouvées sur le sol amendé par la boue activée (tableau 4). La composition métallique des deux boues montre que les boues activées contiennent plus de Zn et de Cd (respectivement 2 980 et 7,7 mg/kg) comparativement à la boue de lagunage (respectivement 2 421 et 4,47 mg/kg), alors que ces deux types de boues ont des teneurs comparables en Pb et en Cu (tableau 2). L'extraction au CaCl₂ (0,1 M) a montré que 15 et 40 % respectivement de Zn et de Cd sont présents sous forme échangeable dans les boues activées contre uniquement 11 et 26 % dans la boue de lagunage. La forme échangeable du Pb représente 0,7 et 1 %, respectivement dans la boue de lagunage et la boue activée. Celle du Cu est de 1,1 % dans les deux boues. Le CaCl₂ (0,1 M) est un extractant utilisé par plusieurs auteurs pour évaluer chimiquement la biodisponibilité de certains éléments traces métalliques

Tableau 4. Teneurs en éléments traces métalliques (mg/kg MS) dans le ray-grass en fonction des coupes, du type et de la dose de boues.

Table 4. Contents of heavy metals (mg/kg MS) in ryegrass according to the cut, type and rate of sewage sludges.

Pb		C1	C2	C3	C4	C5
	Témoin	2,35 a	1,85 a	3,13 a	2,62 a	4,66 b
BL	D1	3,39 a	2,11 a	3,64 a	3,01 a	5,18 b
	D2	3,52 a	2,27 a	3,77 a	3,26 a	5,53 b
BA	D1	3,41 a	2,16 a	3,68 a	3,47 a	5,43 b
	D2	3,13 a	2,62 a	3,55 a	3,50 a	6,45 a
Cu		C1	C2	C3	C4	C5
	Témoin	9,73 a	5,64 a	8,56 d	5,77 b	4,08 b
BL	D1	10,44 a	6,22 a	13,30 b	8,56 a	5,51 ab
	D2	12,00 a	6,48 a	16,49 a	9,53 a	6,35 ab
BA	D1	8,62 a	6,81 a	10,91 c	8,88 a	7,13 a
	D2	9,01 a	7,59 a	11,29 c	10,18 a	7,83 a
Zn		C1	C2	C3	C4	C5
	Témoin	39,14 a	35,60 b	50,52 b	58,01 c	54,90 c
BL	D1	35,71 a	36,20 ab	65,58 a	68,13 b	67,30 b
	D2	39,80 a	38,13 ab	69,34 a	75,71 a	79,46 a
BA	D1	43,46 a	44,85 a	67,79 a	76,36 a	72,49 ab
	D2	45,24 a	48,69 a	71,79 a	80,15 a	85,60 a
Cd		C1	C2	C3	C4	C5
	Témoin	0,11 b	ND	0,06 d	0,24 b	ND
BL	D1	0,24 ab	0,09 b	0,24 cd	0,51 ab	0,13 b
	D2	0,33 a	0,13 b	0,55 bc	0,64 a	0,21 a
BA	D1	0,32 a	0,40 a	0,79 ab	0,55 ab	0,17 ab
	D2	0,40 a	0,55 a	0,94 a	0,63 a	0,25 a

Les valeurs de la même colonne suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% ; C1 à C5 : coupe 1 à coupe 5 ; BL : boue de lagunage ; BA : boue activée ; ND : non détectable.

dans les sols [16, 19, 20]. Granato *et al.* [13] ont montré que, dans le sol amendé par les boues, l'accumulation du Cd, Cr, Ni et Zn dans les feuilles d'épinard est liée au type de boues, à la concentration totale en métal et à sa forme chimique. Les teneurs en Cu et en Zn dans le ray-grass restent inférieures aux limites recommandées par le *National Research Council* des États-Unis [21] fixées respectivement à 25 et 300 mg/kg, alors que celles du Cd peuvent dépasser ces limites, fixées quant à elle, à 0,5 mg/kg [3]. Les teneurs en Pb restent inférieures aux normes de l'OMS fixées à 8,0 mg/kg [22].

Au cours du temps, les teneurs en Pb et en Zn dans le ray-grass ont tendance à augmenter. Pour Cu et Cd, celles-ci diminuent respectivement à partir de la quatrième et de la cinquième coupe. Le sol amendé par les boues est une matrice très complexe. Plusieurs paramètres physico-chimiques (pH, teneur en matière organique, capacité d'échange cationique, etc.) et biologiques peuvent interagir pour gouverner le comportement d'un élément chimique dans le système sol-boues-plante. Au cours du temps, la variation d'une ou de plusieurs caractéristiques de ce système modifie la distribution des éléments traces métalliques entre les différentes phases constitutives du sol [23]. La mobilité de ces éléments est définie comme étant leur aptitude à être transférés vers des compartiments où ils sont de moins en moins énergiquement retenus. Le compartiment ultime est la solution du sol où les éléments traces métalliques seront absorbés par les racines des végétaux [24].

L'augmentation des teneurs en Pb et en Zn dans le ray-grass, au cours du temps, serait liée à une augmentation du métal disponible dans la solution du sol. La minéralisation de la matière organique et la solubilisation des complexes organiques et minéraux augmentent la quantité de métal soluble [12, 15]. La diminution de l'accumulation du Cu par le ray-grass au cours du temps est similaire aux observations de Morel *et al.* [25], Morel *et al.* [2] et de Hooda *et al.* [15]. Ces auteurs ont observé une diminution de l'assimilation des métaux par les végétaux lorsque le temps de séjour des boues dans le sol augmente, ce qui s'expliquerait par le piégeage de la fraction biodisponible des éléments traces métalliques des boues par les différents constituants organo-minéraux du sol (argiles, substances humiques, carbonates, etc.). Cela est ob-

servé pour le Cu parce qu'il a une grande affinité vis-à-vis de la matière organique. Pour pallier les problèmes liés au transfert des éléments traces métalliques vers les cultures après épandage direct des boues, ces dernières peuvent être traitées en les mélangeant avec des résidus lignocellulosiques par le procédé de compostage. Les résultats ont montré une diminution significative de la fraction soluble des éléments traces métalliques susceptible d'être assimilée par les plantes [26], ce qui pourrait être une alternative à l'épandage direct des boues.

Conclusion

L'épandage des boues de stations d'épuration des eaux usées sur les sols agricoles semble être une voie d'amélioration intéressante des rendements des cultures. Toutefois, cette amélioration peut s'accompagner d'une augmentation de l'accumulation des éléments traces métalliques par les cultures.

Le type de boue paraît avoir un effet sur le transfert des éléments traces métalliques vers le ray-grass. Cet effet est variable selon le métal et serait en rapport avec sa concentration dans les boues et sa forme chimique (échangeable).

De plus, les teneurs enregistrées dans les cultures de ray-grass peuvent dépasser les normes recommandées par le *National Research Council* des États-Unis, surtout pour le Cd. De ce fait, un traitement des boues avant leur épandage sur les sols agricoles serait indispensable. Mais ces résultats ont été obtenus en conditions contrôlées, les cultures ont été effectuées en phase de végétation. Dans ces conditions, les éléments traces métalliques sont plus biodisponibles. Il est donc très possible qu'une culture de ray-grass réalisée en plein champ aurait conduit à des concentrations en Cd, Cu, Zn et Pb plus faibles dans le végétal ■

Références

- Schauer PS, Wright WR, Pelchat J. Sludge-borne heavy metal availability and uptake by vegetable crops under field conditions. *J Environ Qual* 1980 ; 9 : 69-73.
- Morel JL, Pierrat JC, Guckert A. Effet et arrière effet de l'épandage des boues urbaines conditionnées à la chaux et aux chlorures ferriques sur la teneur en métaux lourds d'un maïs. *Agronomie* 1988 ; 8 : 107-13.
- Gardiner DT, Miller RW, Badamchian B, Azzari AS, Sisson DR. Effects of repeated sewage sludge applications on plant accumulation of heavy metals. *Agr Ecosyst Environ* 1995 ; 55 : 1-6.

- Miller RW, Azzari AS, Gardiner DT. Heavy metals in crops as affected by soil types and sewage sludge rates. *Commun Soil Sci Plant Anal* 1995 ; 26 : 703-11.
- Miller RW, Al-Khazraji ML, Sisson DR, Gardiner DT. Alfalfa growth and absorption of cadmium and zinc from soils amended with sewage sludge. *Agr Ecosyst Environ* 1995 ; 53 : 179-84.
- Nejmeddine A, Fars S, Echab A. Removal of dissolved and particulate form of metals (Cu, Zn, Pb, Cd) by an anaerobic pond system in Marrakesh (Morocco). *Environnemental Technology* 2000 ; 21 : 225-30.
- Legret M, Divet L, Juste C. Migration et spéciation des métaux lourds dans un sol soumis à des épandages de boues de station d'épuration à très forte charge en Cd et en Ni. *Water Research* 1988 ; 22 : 953-9.
- Baveye P, McBride MB, Bouldin D, Hinesly TD, Dahdoh MS, Abdel Sabour MF. Mass balance and distribution of sludge-borne trace elements in a silt loam soil following long-term applications of sewage sludge. *Sci Total Environ* 1999 ; 227 : 13-28.
- Dudka S, Miller WP. Accumulation of potentially toxic elements in plants and their transfer to human food chain. *J Environ Sci Health B* 1999 ; 34 : 681-708.
- Manz M, Weissfloy L, Kühne R, Schürmann G. Ecotoxicological hazard and risk assessment of heavy metal contents in agricultural soils of central Germany. *Ecotoxicol Environ Safety* 1999 ; 42 : 191-201.
- Afnor. Arrêté du 8 Janvier 1998 fixant les prescriptions techniques applicables aux épandages des boues sur les sols agricoles pris en application du décret n° 97-1133 du 8 décembre 1997 relatif à l'épandage des boues issues du traitement des eaux usées. *Code permanent Environnement et Nuisance*, 1998 ; Bulletin 245 : 6605-12.
- Hooda PS, Alloway BJ. Effects of time and temperature on the bioavailability of Cd and Pb from sludge-amended soils. *J Soil Sci* 1993 ; 44 : 97-110.
- Granato TC, Sawyer B., Elenbogen G, Zeng D.R., Rao. K.C. and Lue-hing C. Effect of sludge type, total soil metal concentration, and the concentration of metal in chemical fractions of sludge amended soil on the accumulation of Cd, Cr, Ni and Zn in spinach leaf. *Report n° 93-11. Metropolitan water reclamation district of greater Chicago, Research and Development Department*, June 1993
- Tauzin C, Juste C. Effet de l'application à long terme de diverses matières fertilisantes sur l'enrichissement en métaux lourds des parcelles. *Rapport du contrat 4084/93*, ministère de l'Environnement (France), 1986.
- Hooda PS, Alloway BJ. The plant availability and DTPA extractibility of trace in sludge amended soils. *Sci Tot Environ* 1994 ; 149 : 39-51.
- Echab A. Réutilisation des boues de stations d'épuration des eaux usées : Impact des métaux lourds. *Thèse de 3^e cycle, Univ Cadi Ayyad* 1998 ; 141 p.
- Sommers LE, Nelson DW, Yost KJ. Variable nature of chemical composition of sewage sludges. *J Environ Qual* 1976 ; 5 : 303-6.
- Granato TC, Pietz RI, Gschwind J, Lue-Hing C. Mercury in soils and crops from fields receiving high cumulative sewage sludge applica-

tions: validation of U.S. EPA's risk assessment for human ingestion. *Wat, Air and Soil Poll* 1995 ; 80 : 1119-27.

19. Juste C, Solda P. Influence de l'addition de différentes matières fertilisantes sur la biodisponibilité du cadmium, du manganèse, du nickel et du zinc contenus dans un sol sableux amendé par des boues de stations d'épuration. *Agronomie* 1988 ; 8 : 897-904.

20. Rada A, Elgharmali A, Elmeray M, Morel JL. Bioavailability of cadmium and copper in two soils from the sewage farm of Marrakech city (Morocco): Effect of earthworms. *Agricoltura Mediterranea* 1996 ; 126 : 364-8.

21. National Research Council. Mineral tolerance of domestic animals. Washington (DC, États-Unis): *National Academy of Science*, 1980

22. Godin P. Sources de contamination et enjeux. Séminaire « Éléments traces et pollution des sols », 4-5 Mai 1982, Paris: 3-12.

23. Ramos L, Gonzalez MJ, Hernandez LM. Sequential extraction of copper, lead, cadmium and zinc in sediments from Ebro river (Spain): relationship with levels detected in earthworms. *Bull Environ Contam Toxicol* 1999 ; 62 : 301-8.

24. Lebourg A, Sterckman T, Ciesielski H, Proix N. Intérêt de différents réactifs d'extrac-

tion chimique pour l'évaluation de la biodisponibilité des métaux en traces du sol. *Agronomie* 1996 ; 16 : 201-15.

25. Morel JL, Guckert A. Évolution en plein champ de la solubilité dans DTPA des métaux lourds du sol introduits par des épandages des boues urbaines chaulées. *Agronomie* 1984 ; 4 : 377-86.

26. Echab A, Nejmeddine A, Hafidi M, Guirresse M, Kaemmerer M, et Revel JC. Évolution de la fraction échangeable des métaux lourds (Pb, Cu, Zn et Cd) lors du compostage des boues de stations de traitement des eaux usées. *Agrochimica* 1998 ; 33 : 310-8